

DERWENT- 2003-167266

ACC-NO:

DERWENT- 200670

WEEK:

COPYRIGHT 2008 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Cross-linked elastin, useful for preparing medical instruments and regeneration tissues, comprises cross-linking materials containing water soluble elastins cross-linked with water-soluble agent

INVENTOR: KEIICHI M; MIYAMOTO K

PATENT-ASSIGNEE: CHISSO CORP[CHCC] , MIYAMOTO K[MIYAI]

PRIORITY-DATA: 2001JP-163505 (May 30, 2001) , 2002WO-JP05275 (May 30, 2002).

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE
<u>WO 02096978 A1</u>	December 5, 2002	JA
EP 1403304 A1	March 31, 2004	EN
US 20040136977 A1	July 15, 2004	EN
AU 2002304103 A1	December 9, 2002	EN
JP 2003500155 X	April 14, 2005	JA
US 20060204529 A1	September 14, 2006	EN
US 7125960 B2	October 24, 2006	EN

DESIGNATED-STATES: AE AG AL AM AT AU AZ BA BB BG BR BY BZ CA CH CN CO CR CU
CZ DE DK DM DZ EC EE ES FI GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN
IS JP KE KG KP KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN
MW MX MZ NO NZ OM PH PL PT RO RU SD SE S G SI SK SL TJ
TM TN TR TT TZ UA UG US UZ VN YU ZA ZM ZW AT BE CH CY DE
DK EA ES FI FR GB GH GM GR IE IT KE LS LU MC MW MZ NL OA
PT SD SE SL SZ TR TZ UG ZM ZW AL AT BE CH CY DE DK ES FI
FR GB GR IE IT LI LT LU LV MC MK NL PT RO SE SI TR

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DESCRIPTOR	APPL-NO	APPL-DATE
WO2002096978A1	N/A	2002WO-JP05275	May 30, 2002
AU2002304103A1	N/A	2002AU-304103	May 30, 2002
EP 1403304A1	N/A	2002EP-730787	May 30, 2002

EP 1403304A1	N/A	2002WO-JP05275	May 30, 2002
US20040136977A1	N/A	2002WO-JP05275	May 30, 2002
JP2003500155X	N/A	2002WO-JP05275	May 30, 2002
US 7125960B2	N/A	2002WO-JP05275	May 30, 2002
JP2003500155X	N/A	2003JP-500155	May 30, 2002
US20040136977A1	N/A	2003US-478150	November 19, 2003
US 7125960B2	N/A	2003US-478150	November 19, 2003
US20060204529A1	Based on	2006US-357590	February 17, 2006

**INT-CL-
CURRENT:**

TYPE	IPC	DATE	
CIPP	A61 K	<u>38/39</u>	20060101
CIPP	C07 K	<u>1/08</u>	20060101
CIPS	A61 L	<u>27/22</u>	20060101
CIPS	C07 K	<u>14/78</u>	20060101
CIPS	C08 G	<u>63/48</u>	20060101
CIPS	C08 G	<u>63/91</u>	20060101
CIPS	C08 H	<u>1/06</u>	20060101
CIPS	C09 J	<u>189/00</u>	20060101
CIPS	C12 N	<u>9/64</u>	20060101

ABSTRACTED-PUB-NO: WO 02096978 A1

BASIC-ABSTRACT:

NOVELTY - Cross-linked elastin comprises cross-linking materials, containing one or more water soluble elastins, which are cross-linked with a water soluble cross-linking agent.

USE - The cross-linked elastin is for use for producing medical instruments and regeneration tissues.

ADVANTAGE - The cross-linked elastin provides a biocompatible functional material having an elasticity appropriate for vital transplants without causing release of cell-adhesive protein.

EQUIVALENT-ABSTRACTS:

POLYMERS

Preferred material: The cross-linking material further contains at least one substance selected from a protein (e.g. collagen, gelatin, fibronectin, fibrin, laminin, casein, and/or sericin), a polyamino acid, a glucide (e.g. agar, galactomannan, and/or starch), a cell-multiplication factor (e.g. epithelial growth factor, and/or ciliary neurotrophic factor), polymethyl siloxane, polytetrafluoroethylene, silicone, polyurethane, and/or polyethylene. The content of the water-soluble elastin is 0.5-99.5 wt%. The cross-linked elastin has a Young coefficient of 1 to the power 2-1 to the power 7 Pa. The inner structure of the cross-linked elastin is a sponge-like structure having pores. The mean diameter of the pores is less than 20 microm or between 20 microm and 2 mm.

Preferred agent: The water soluble cross-linking agent contains a hydrophobic part near the center of the molecule, which has an active ester group, reactive with the amino group at both ends. The water soluble cross-linking agent is a water soluble compound represented by general formula (1).

R1, R2 = (A) or (B);

R4, R5 = H, CH3 or C2H5;

R2 = (C) or (D);

n = 1-20;

m, l = 0-15;

X, Y = CH2 or O;

Z = C or N;

R6-R9 = H, CH3 or C2H5.

An elastin molded article such as a medical treatment tool comprising the invented cross-linked elastin, and a medical treatment that uses the medical tools is also disclosed.

A water soluble elastin was prepared by treating powdery water insoluble elastin with oxalic acid at 100 degrees C. After removing the oxalic acid, the elastin was freeze-dried. The obtained water-soluble elastin was dissolved in deionized water. Ethylene glycol diglycidyl ether solution was added to the water soluble elastin and heated at 50 degrees C for 1 hour so as to obtain a gelized cross-linked elastin.

TITLE- CROSS LINK ELASTIN USEFUL PREPARATION MEDICAL INSTRUMENT
TERMS: REGENERATE TISSUE COMPRISE MATERIAL CONTAIN WATER SOLUBLE

AGENT

DERWENT-CLASS: A11 A96 B04 D22 P34

CPI-CODES: A12-V02; B04-C02B2; B04-C02D; B04-C02F; B04-C03; B04-H06;
B04-H19; B04-N02; B04-N06; B11-C04; B14-N17B; D09-C;

CHEMICAL- Chemical Indexing M1 *01* Fragmentation Code A960 A970
CODES: B414 B713 B720 B743 B760 B770 B796 B833 C710 C801 C802
C803 C804 C805 C806 C807 M210 M211 M250 M283 M320 M411
M423 M424 M431 M510 M520 M530 M540 M620 M630 M740 M782
N105 P942 Specific Compounds RA1B7W Registry Numbers 2186

Chemical Indexing M1 *02* Fragmentation Code M417 M423
M424 M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds RA00GT
Registry Numbers 200757 200799

Chemical Indexing M1 *03* Fragmentation Code M423 M424
M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds RA01A4
Registry Numbers 94008

Chemical Indexing M1 *04* Fragmentation Code H7 H721 M210
M212 M320 M423 M424 M431 M510 M520 M530 M540 M610 M740
M782 N105 P942 Specific Compounds RA009Z Registry Numbers
104401

Chemical Indexing M1 *05* Fragmentation Code K0 L4 L463
L499 M280 M312 M313 M314 M315 M323 M332 M342 M383 M393
M423 M424 M431 M510 M520 M530 M540 M620 M740 M782 N105
P942 Specific Compounds R16492 Registry Numbers 104486

Chemical Indexing M1 *06* Fragmentation Code B414 B713
B720 B744 B760 B770 B796 B833 M210 M211 M250 M283 M320
M423 M424 M431 M510 M520 M530 M540 M620 M740 M782 N105
P942 Specific Compounds RA018L Registry Numbers 107017

Chemical Indexing M1 *07* Fragmentation Code H6 H601 H607
H609 H684 H689 H7 H721 M280 M312 M321 M332 M344 M363 M391
M423 M424 M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds
R00975 Registry Numbers 104333

Chemical Indexing M1 *08* Fragmentation Code M423 M424
M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds R01863
Registry Numbers 107779

Chemical Indexing M1 *09* Fragmentation Code M423 M424
M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds RA08WL
Registry Numbers 95820

Chemical Indexing M1 *10* Fragmentation Code J0 J011 J2
J221 J5 J581 K0 K4 K421 L5 L560 M210 M211 M262 M280 M281
M320 M416 M423 M424 M431 M740 M782 N105 P942 Specific
Compounds R24070 Registry Numbers 86729

Chemical Indexing M1 *11* Fragmentation Code M423 M424
M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds RA2755
Registry Numbers 124498

Chemical Indexing M1 *12* Fragmentation Code M423 M424
M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds R24040
Registry Numbers 90158

Chemical Indexing M1 *13* Fragmentation Code M423 M424
M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds RA04JD
Registry Numbers 114424

Chemical Indexing M1 *14* Fragmentation Code M423 M424
M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds RA01A3
Registry Numbers 95140

Chemical Indexing M1 *15* Fragmentation Code M423 M424
M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds RA007V
Registry Numbers 95154

Chemical Indexing M1 *16* Fragmentation Code M423 M424
M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds R24033
Registry Numbers 95972

Chemical Indexing M1 *17* Fragmentation Code M423 M424
M431 M740 M782 N105 P942 Specific Compounds R24034
Registry Numbers 91481

Chemical Indexing M2 *18* Fragmentation Code C216 F011
F012 F013 F014 F015 F016 F019 F423 F431 F499 G011 G012
G013 G014 G015 G016 G017 G018 G019 G100 H211 H212 H521
H522 H541 H542 J0 J012 J2 J241 J242 J271 J272 J522 J523 K0
K431 K432 K499 K820 K899 L410 L472 L499 L730 L799 L930
L941 L999 M210 M211 M212 M240 M271 M280 M281 M282 M283
M311 M312 M313 M314 M315 M316 M320 M321 M322 M331 M332
M333 M340 M342 M349 M372 M373 M381 M382 M391 M392 M413
M414 M424 M431 M510 M520 M521 M522 M523 M530 M531 M532
M533 M540 M630 M640 M650 M740 M782 N105 Q132 Markush
Compounds 008466601

UNLINKED-
DERWENT-
REGISTRY-
NUMBERS:

; 0975U ; 0975S ; 1863U ; 1863S

**ENHANCED-
POLYMER-
INDEXING:**

Polymer Index [1.1] 018 ; G3714 P0599 D01 F70 R24034
91481; G3714 P0599 D01 F70 R24033 95972; G3714 P0599
D01 F70 R24040 90158;

Polymer Index [1.2] 018 ; G3623 P0599 D01 R24070
86729; G3623 P0599 D01 R24069 135412; D01 D11 D10 D23
D22 D31 D42 D50 D76 D86 F24 F29 F26 F34 H0293 P0599
G3623 R01863 107779;

Polymer Index [1.3] 018 ; D11 D10 D50 D81 F86;
P1445*R F81 Si 4A;

Polymer Index [1.4] 018 ; G0022 D01 D12 D10 D51 D53
D59 D69 D82 F* 7A R00975 104333; H0000; P0511;

Polymer Index [1.5] 018 ; P1445*R F81 Si 4A;

Polymer Index [1.6] 018 ; P1592*R F77 D01;

Polymer Index [1.7] 018 ; G0044 G0033 G0022 D01 D02
D12 D10 D51 D53 D58 D82 R00326 1013; H0000; P1150;
P1161;

Polymer Index [1.8] 018 ; Q9999 Q8026 Q7987; B9999
B4488 B4466; B9999 B3930*R B3838 B3747; ND01; ND04;

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: 2003-043402

Non-CPI Secondary Accession Numbers: 2003-132231

Disclaimer:

This English translation is produced by machine translation and may contain errors. The JPO, the INPIT, and those who drafted this document in the original language are not responsible for the result of the translation.

Notes:

1. Untranslatable words are replaced with asterisks (****).
2. Texts in the figures are not translated and shown as it is.

Translated: 05:47:22 JST 02/20/2008

Dictionary: Last updated 02/15/2008 / Priority: 1. Fiber/Clothing material / 2. Chemistry / 3. Industrial Products

CLAIMS

[Claim(s)]**[Claim 1]**

The elastin bridge formation object with which it comes to construct a bridge over the bridge formation raw material containing one or more sorts chosen from water-soluble elastin by a water-soluble cross linking agent.

[Claim 2]

A bridge formation raw material further Collagen, gelatin, fibronectin, fibrin, RAMININ, casein, a keratin, sericin, protein that is thrombin, Polyglutamic acid, the polyamino acid which is poly lysine, polygalacturonic acid, Heparin, chondroitin sulfate, hyaluronic acid, dermatan sulfate, chondroitin, Dextran sulfate, sulfation cellulose, alginic acid, dextran, Carboxymethyl chitin, galactomannan, gum arabic, tragacanth gum, Gellant gum, sulfation Gelin, karaya gum, a carrageenan, agar, Xanthan gum, curdlan, a pullan, cellulose, a starch, carboxymethylcellulose, Methyl cellulose, soybean water solubility polysaccharide, glucomannan, chitin, chitosan, Sugar, bFGF (basic fibroblast growth factor) which are xylo glucan and lentinan, TGF-alpha (transformation growth factor alpha), EGF (epithelium growth factor), VEGF (intravascular endothelial growth factor), The cell growth factor, polymethyl methacrylate, poly dimethylsiloxane, the polytetrafluoroethylene, the silicone, polyurethane, polyethylene terephthalate, polypropylene which are CTNF (ciliary nerve nutrition factor), Polyethylene, poly caprolactone, polypropylene ether, a polytetramethylene glycol, polyethylene glycol, polylactic acid, poly vinyl alcohol, and the elastin bridge formation object containing one or more sorts chosen from Puri malic acid according to claim 1.

[Claim 3]

The elastin bridge formation object according to claim 1 which is the range whose content of water-soluble elastin is 0.5 to 99.5 weight %.

[Claim 4]

The elastin bridge formation object according to claim 1 which is that of the range whose Young's modulus is 1×10^2 to 1×10^7 Pa.

[Claim 5]

The elastin bridge formation object according to claim 1 which is the sponge structure where an internal structure has an opening.

[Claim 6]

The elastin bridge formation object according to claim 5 whose average diameter of an opening is a range below 20 micrometers.

[Claim 7]

The elastin bridge formation object according to claim 5 which is the range whose average diameters of an opening are 20 micrometers - 2mm.

[Claim 8]

Collagen, gelatin, fibronectin, fibrin, RAMININ, Protein, polyglutamic acid which are casein, a keratin, sericin, and thrombin, The polyamino acid, polygalacturonic acid, heparin which are Pori lysine, Chondroitin sulfate, hyaluronic acid, dermatan sulfate, chondroitin, Dextran sulfate, sulfation cellulose, alginic acid, dextran, Carboxymethyl chitin, galactomannan, gum arabic, tragacanth gum, Gellant gum, sulfation Gelin, karaya gum, a carrageenan, agar, Xanthan gum, curdlan, a pull run, cellulose, a starch, carboxymethylcellulose, Methyl cellulose, soybean water solubility polysaccharide, glucomannan, chitin, chitosan, Sugar, bFGF (basic fibroblast growth factor) which are xylo glucan and lentinan, TGF-alpha (transformation growth factor alpha), EGF (epithelium growth factor), VEGF (intravascular hide growth factor), The cell growth factor which is CTNF (ciliary nerve nutrition factor), polymethyl methacrylate, Pori dimethylsiloxane, polytetrafluoroethylene, silicone, polyurethane, polyethylene terephthalate, polypropylene, polyethylene, Pori caprolactone, polypropylene ether, a polytetramethylene glycol, polyethylene glycol, polylactic acid, Pori vinyl alcohol, and the elastin bridge formation object according to claim 1 or 2 that was chosen from Pori malic acid and with which one or more sorts were combined chemically.

[Claim 9]

The elastin bridge formation object according to claim 8 which is bridge formation using a cross linking agent of chemical binding.

[Claim 10]

Collagen, gelatin, fibronectin, fibrin, RAMININ, Protein, polyglutamic acid which are casein, a keratin, sericin, and thrombin, The polyamino acid, polygalacturonic acid, heparin which are Pori lysine, Chondroitin sulfate, hyaluronic acid, dermatan sulfate, chondroitin, Dextran sulfate, sulfation cellulose, alginic acid, dextran, Carboxymethyl chitin, galactomannan, gum arabic, tragacanth gum, Gellant gum, sulfation Gelin, karaya gum, a carrageenan, agar, Xanthan gum, curdlan, a pull run, cellulose, a starch, carboxymethylcellulose, Methyl cellulose, soybean

water solubility polysaccharide, glucomannan, chitin, chitosan, Sugar, bFGF (basic fibroblast growth factor) which are xylo glucan and lentinan, TGF-alpha (transformation growth factor alpha), EGF (epithelium growth factor), VEGF (intravascular hide growth factor), The cell growth factor which is CTNF (ciliary nerve nutrition factor), polymethyl methacrylate, Pori dimethylsiloxane, polytetrafluoroethylene, silicone, polyurethane, polyethylene terephthalate, polypropylene, polyethylene, Pori caprolactone, polypropylene ether, a polytetramethylene glycol, polyethylene glycol, polylactic acid, Pori vinyl alcohol, and the elastin bridge formation object containing one or more sorts chosen from Pori malic acid according to claim 1, 2, or 8.

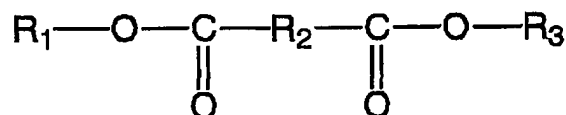
[Claim 11]

The elastin bridge formation object according to claim 1 which is the water-soluble compound which a water-soluble cross linking agent has a hydrophobic part to a molecule center field, and has the activity ester group which reacts to both ends with an amino group.

[Claim 12]

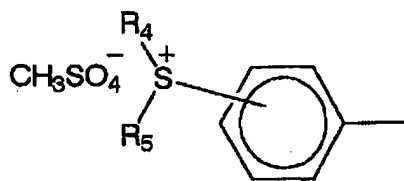
The elastin bridge formation object according to claim 1 characterized by a water-soluble cross linking agent being the water-soluble compound expressed with a following general formula.

<General formula>

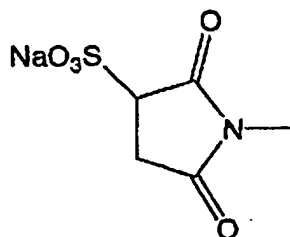


[R1 and R3 are in any of <A> expressed with the following constitutional formula, or , and even if R3 are the same as R1, they may differ,

<A>

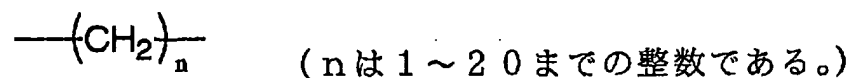


(R4 and R5 are H, CH3, or C2H5, and even if R5 are the same as R4, they may differ in them.)

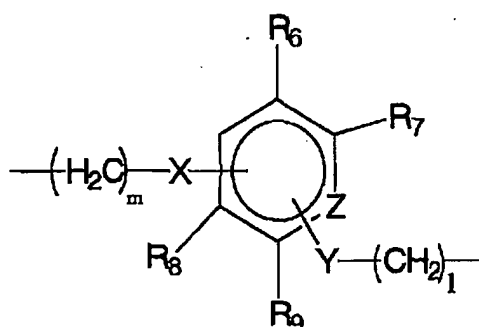


(R2 being a compound expressed with any of <C> or <D> which are expressed with the following constitutional formula they are)

<C>



<D>



([m and l are the integers to 0-15, and / X and Y]) It is in any of CH₂ or O, and even if they are the same, they may differ, and even if R₆, R₇, R₈, and R₉ are the same respectively, they may differ [Z is in any of C or N, and / X and Y are in any of H, CH₃, and C₂H₅, and] in them.

[Claim 13]

Claim 1 - 12 elastin Plastic solids which consist of an elastin bridge formation object given in any 1 clause.

[Claim 14]

The elastin Plastic solid according to claim 13 whose form is filar, the shape of a film, a rod-like pellet type, or tube shape.

[Claim 15]

The medical instrument using an elastin bridge formation object according to claim 1.

[Claim 16]

The surgical treatment method characterized by using a medical instrument according to claim 15.

[Claim 17]

Regeneration medicine characterized by using an elastin bridge formation object according to claim 1 and a medical instrument according to claim 15.

[Claim 18]

The regeneration organization obtained using the elastin bridge formation object according to

claim 1.

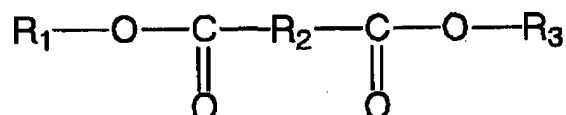
[Claim 19]

The cross linking agent containing the water-soluble compound which has a hydrophobic part to a molecule center field, and has the activity ester group which reacts to both ends with an amino group.

[Claim 20]

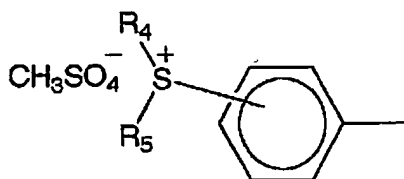
The cross linking agent according to claim 19 whose compound is a compound expressed with a following general formula.

<General formula>

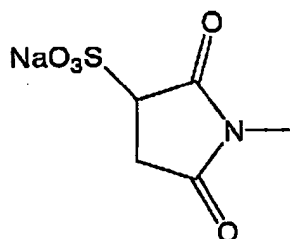


(R1 and R3 being in any of <A> expressed with the following constitutional formula, or , and differing, even if R3 are the same as R1)

<A>

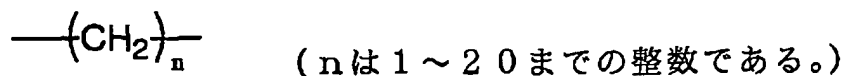


(R4 and R5 are H, CH3, or C2H5, and even if R5 are the same as R4, they may differ in them.)

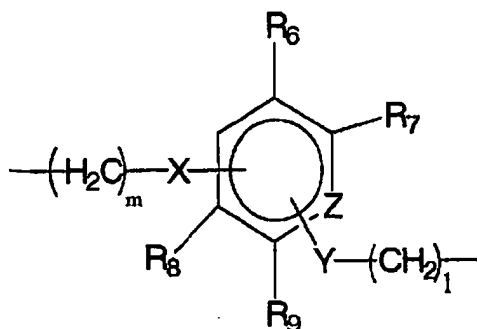


(R2 being a compound expressed with any of <C> or <D> which are expressed with the following constitutional formula they are)

<C>



<D>



([m and l are the integers to 0-15, and / X and Y]) It is in any of CH₂ or O, and even if they are the same, they may differ, and even if R₆, R₇, R₈, and R₉ are the same respectively, they may differ [Z is in any of C or N, and / X and Y are in any of H, CH₃, and C₂H₅, and] in them.
[Claim 21]

The manufacture method of the elastin bridge formation object characterized by constructing a bridge in water-soluble elastin by the crosslinking reaction using a water-soluble cross linking agent according to claim 19.

[Claim 22]

The manufacture method of the elastin bridge formation object according to claim 21 characterized by being the range whose reaction temperature at the time of crosslinking reaction is 4-150 degrees C.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

Technical field

This invention relates to biocompatibility functionality material and its manufacture method, a medical instrument, a cross linking agent, the surgical treatment method, and a pan in a regeneration organization.

Background art

The inner tube by artificial material is connected with a nerve deficit part as one of the therapy methods to the patient by whom nerve tissue was cut for the Reason of an accident, disaster, and others, and the method of guiding the rebirth of nerve tissue in this inner tube is performed. As this inner tube, what coated cell adhesion nature protein, such as collagen and RAMININ, is used in the inside of inner tubes, such as silicone, polyurethane, polyester, polyethylene terephthalate, alginic acid, and polylactic acid.

A blood vessel as one of the therapy methods to the cut patient Moreover, silicone, The cloth

which knit synthetic macromolecule fibers, such as polyurethane and polyester, is made tubular, the artificial blood vessel which coated cell adhesion nature protein, such as collagen and RAMININ, for the inside is transplanted to a blood vessel cutting part, and the method of making endothelial cells guide to the inside of this artificial blood vessel is performed.

The indication of invention

[the inside of the above-mentioned silicone inner tube, a polyurethane inner tube, etc.] Since there is no cell adhesion nature, when the inner tube and this artificial blood vessel which coated cell adhesion nature protein, such as collagen and RAMININ, are used for the above therapy methods until now Between long-term therapies, this cell adhesion nature protein

****ed and the rebirth of the organization of a nerve, a blood vessel, etc. was inadequate.

Furthermore, although the inner tube transplanted in an animal and the artificial blood vessel are asked only for the elasticity interlocked with a human body and the movement toward each organization [the Young's modulus (elastic modulus) of the inner tube which uses silicone and polyester as the main raw material, or an artificial blood vessel] From the Young's modulus (elastic modulus) of the organization which adapted itself being 1×10^4 to 2×10^6 Pa, since it was 1×10^7 Pa or more, stress strong against a junction happens, as a result, it has problems, like a thrombus arises, and the material which has the same elasticity as the organization of a human body was called for.

[this invention person / water-soluble elastin] by constructing a bridge by a cross linking agent as a result of repeating research wholeheartedly in view of the technical problem of the above-mentioned conventional technology Desorption of cell adhesion nature protein, such as coated collagen and RAMININ, did not take place, but it found out that the elastin bridge formation object which has only the elasticity which may suit transplantation of a living body could be acquired, and this invention was completed based on this knowledge.

This invention has the following composition.

(1) The elastin bridge formation object with which it comes to construct a bridge over the bridge formation raw material containing one or more sorts chosen from water-soluble elastin by a water-soluble cross linking agent.

A bridge formation raw material further (2) Collagen, gelatin, fibronectin, Fibrin, RAMININ, casein, a keratin, sericin, protein that is thrombin, Polyglutamic acid, the polyamino acid which is Pori lysine, polygalacturonic acid, Heparin, chondroitin sulfate, hyaluronic acid, dermatan sulfate, chondroitin, Dextran sulfate, sulfation cellulose, alginic acid, dextran, Carboxymethyl chitin, galactomannan, gum arabic, tragacanth gum, Gellant gum, sulfation Gelin, karaya gum, a carrageenan, agar, Xanthan gum, curdlan, a pull run, cellulose, a starch, carboxymethylcellulose, Methyl cellulose, soybean water solubility polysaccharide, glucomannan, chitin, chitosan, Sugar, bFGF (basic fibroblast growth factor) which are xylo glucan and lentinan, TGF-alpha (transformation growth factor alpha), EGF (epithelium growth

factor), VEGF (intravascular hide growth factor), The cell growth factor, polymethyl methacrylate, Pori dimethylsiloxane, the polytetrafluoroethylene, the silicone, polyurethane, polyethylene terephthalate, polypropylene which are CTNF (ciliary nerve nutrition factor) Polyethylene, Pori caprolactone, polypropylene ether, a polytetramethylene glycol, polyethylene glycol, polylactic acid, Pori vinyl alcohol, and an elastin bridge formation object given [containing one or more sorts chosen from Pori malic acid] in (1).

(3) The elastin bridge formation object given in (1) which is the range whose content of water-soluble elastin is 0.5 to 99.5 weight %.

(4) The elastin bridge formation object given in (1) which is the range whose Young's modulus is 1×10^2 to 1×10^7 Pa.

(5) The elastin bridge formation object given in (1) which is the sponge structure where an internal structure has an opening.

(6) The elastin bridge formation object given in (5) the given average diameter of an opening is a range below 20 micrometers.

(7) The elastin bridge formation object given in (5) which is the range whose average diameters of an opening are 20 micrometers - 2mm.

(8) Collagen, gelatin, fibronectin, fibrin, RAMININ, Protein, polyglutamic acid which are casein, a keratin, sericin, and thrombin, The polyamino acid, polygalacturonic acid, heparin which are Pori lysine, Chondroitin sulfate, hyaluronic acid dermatan sulfate, chondroitin, Dextran sulfate, sulfation cellulose, alginic acid, dextran, Carboxymethyl chitin galactomannan, gum arabic, tragacanth gum, Gellant gum, sulfation Gelin, karaya gum, a carrageenan, agar, Xanthan gum, curdian, a pull run, cellulose, a starch, carboxymethylcellulose, Methyl cellulose, soybean water solubility polysaccharide, glucomannan, chitin, chitosan, Sugar, bFGF (basic fibroblast growth factor) which are xylo glucan and lentinan, TGF-alpha (transformation growth factor alpha), EGF (epithelium growth factor), VEGF (intravascular hide growth factor), The cell growth factor which is CTNF (ciliary nerve nutrition factor), polymethyl methacrylate, Pori dimethylsiloxane, polytetrafluoroethylene, silicone, polyurethane, polyethylene terephthalate, polypropylene, polyethylene, (1) or the elastin bridge formation object given in (2) which was chosen from Pori caprolactone, polypropylene ether, a polytetramethylene glycol, polyethylene glycol, polylactic acid, Pori vinyl alcohol, and Pori malic acid and with which it comes to combine one or more sorts chemically.

(9) The elastin bridge formation object given in (8) which is bridge formation using a cross linking agent of chemical binding.

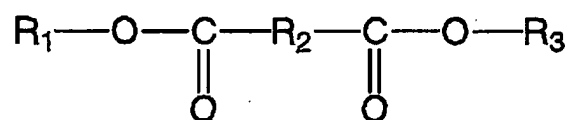
(10) Collagen, gelatin, fibronectin, fibrin, RAMININ, Protein, polyglutamic acid which are casein, a keratin, sericin, and thrombin, The polyamino acid, polygalacturonic acid, heparin which are Pori lysine, Chondroitin sulfate, hyaluronic acid, dermatan sulfate, chondroitin, Dextran sulfate, sulfation cellulose, alginic acid, dextran, Carboxymethyl chitin,

galactomannan, gum arabic, tragacanth gum, Gellant gum, sulfation Gelin, karaya gum, a carrageenan, agar, Xanthan gum, curdlan, a pullan, cellulose, a starch, carboxymethylcellulose, Methyl cellulose, soybean water solubility polysaccharide, glucomannan, chitin, chitosan, Sugar, bFGF (basic fibroblast growth factor) which are xylo glucan and lentinan, TGF-alpha (transformation growth factor alpha), EGF (epithelium growth factor), VEGF (intravascular endothelial growth factor), The cell growth factor which is CTNF (ciliary nerve nutrition factor), polymethyl methacrylate, Pore dimethylsiloxane, polytetrafluoroethylene, silicone, polyurethane, polyethylene terephthalate, polypropylene, polyethylene (1), (2), or the elastin bridge formation object given in (8) containing one or more sorts chosen from Pore caprolactone, polypropylene ether, a polytetramethylene glycol, polyethylene glycol, polylactic acid, Pore vinyl alcohol, and Pore malic acid.

(11) The elastin bridge formation object given in (1) which is the water-soluble compound which a water-soluble cross linking agent has a hydrophobic part to a molecule center field, and has the activity ester group which reacts to both ends with an amino group.

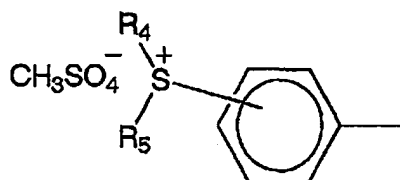
(12) The elastin bridge formation object given in (1) characterized by a water-soluble cross linking agent being the water-soluble compound expressed with a following general formula.

<General formula>

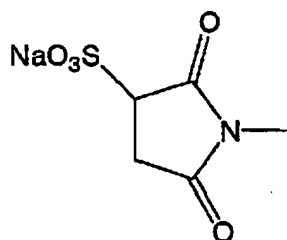


(R1 and R3 being in any of <A> expressed with the following constitutional formula, or , and differing, even if R3 are the same as R1)

<A>

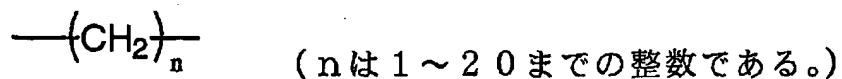


(R4 and R5 are H, CH3, or C2H5, and even if R6 are the same as R4, they may differ in them.)

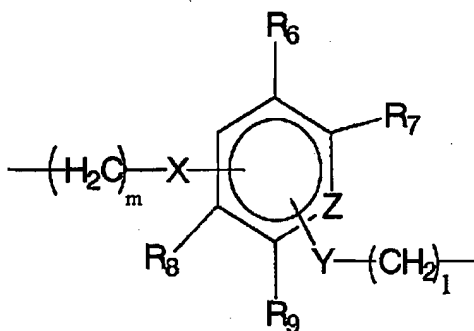


(R2 being a compound expressed with any of <C> or <D> which are expressed with the following constitutional formula they are)

<C>



<D>



([m and l are the integers to 0-15, and / X and Y]) It is in any of CH₂ or O, and even if they are the same, they may differ, and even if R₆, R₇, R₈, and R₉ are the same respectively, they may differ [Z is in any of C or N, and / X and Y are in any of H, CH₃, and C₂H₅, and] in them.

(13) Elastin Plastic solid which consists of an elastin bridge formation object of (1) - (12) given in any 1 clause.

(14) The elastin Plastic solid given in (13) given form is filar, the shape of a film, a rod-like pellet type, or tube shape.

(15) Medical instrument using an elastin bridge formation object given in (1).

(16) The surgical treatment method characterized by using a medical instrument given in (15).

(17) An elastin bridge formation object given in (1), regeneration medicine characterized by using a medical instrument given in (15).

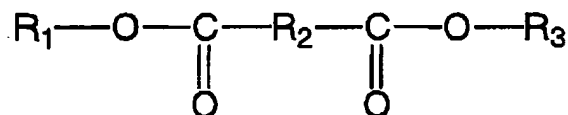
(18) Regeneration organization obtained using the elastin bridge formation object given in (1).

(19) The cross linking agent containing the water-soluble compound which has a hydrophobic part to a molecule center field, and has the activity ester group which reacts to both ends with

an amino group.

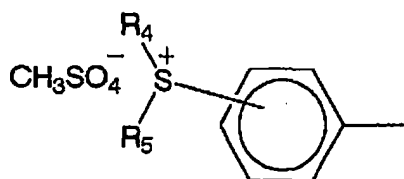
(20) The cross linking agent given in (19) a given compound is a compound expressed with a following general formula.

<General formula>

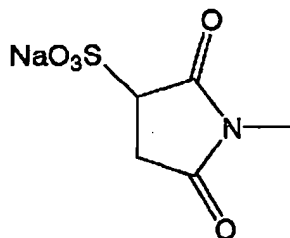


(R1 and R3 being in any of <A> expressed with the following constitutional formula, or , and differing, even if R3 are the same as R1)

<A>

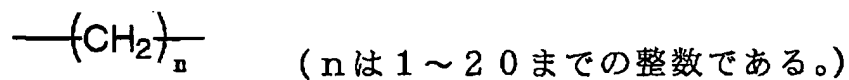


(R4 and R5 are H, CH3, or C2H5, and even if R5 are the same as R4, they may differ in them.)

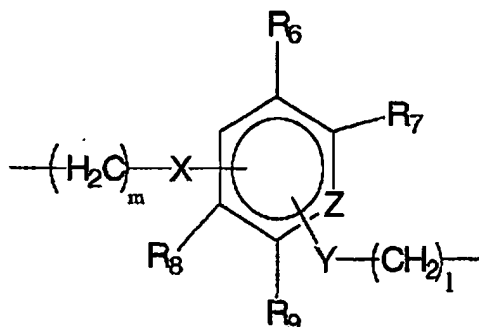


(R2 being a compound expressed with any of <C> or <D> which are expressed with the following constitutional formula they are)

<C>



<D>



([m and l are the integers to 0-15, and / X and Y]) It is in any of CH₂ or O, and even if they are the same, they may differ, and even if R₆, R₇, R₈, and R₉ are the same respectively, they may differ [Z is in any of C or N, and / X and Y are in any of H, CH₃, and C₂H₅, and] in them.

(21) The manufacture method of the elastin bridge formation object characterized by constructing a bridge in water-soluble elastin by the crosslinking reaction using a water-soluble cross linking agent given in (19).

(22) The manufacture method of the elastin bridge formation object given in (21) characterized by being the range whose reaction temperature at the time of crosslinking reaction is 4-150 degrees C.

The form of implementation of invention

Although the water-soluble elastin in particular used for this invention is not limited, it is hydrolyzed and obtained and elastin specifically alpha-elastin or beta-elastin obtained by carrying out heat oxalic acid treatment of the head ligament of an animal etc., At least one or more sorts of elastin, such as TOROPO elastin which is kappa-elastin obtained by carrying out alkali ethanol treatment of the elastin, the water-soluble elastin which carried out enzyme treatment by elastase, and a precursor in an elastin biosynthesis course, can be used. Especially TOROPO elastin can use at least one or more kinds of the TOROPO elastin gene product from which it is not limited and the extract from an animal cell is also obtained by the modifying-gene method.

A lot of elastin in the inside-of-the-body tissue of which elasticity, such as a main artery and vocal cords, is required which is elastic protein usually exists in in the living body. Since the elastin which exists in the living body has the firm structure of cross linkage, such as that there is much content of a hydrophobic amino acid, and desmosine, iso desmosine, it has the character of water-insoluble nature. This elastin has elasticity, in order to form the characteristic structure called an oily coil by such the structure of cross linkage.

The elastin bridge formation object of this invention can construct for them a bridge and obtain one or more sorts chosen from the water-soluble elastin which decomposed the structure of cross linkage of elastin in the living body, and was made into water solubility by a water-

soluble cross linking agent. Moreover, after mixing a water-soluble cross linking agent with the water-soluble above-mentioned elastin and considering it as a water-soluble elastin aqueous solution, the elastin Plastic solid of this invention can be slushed into the template for fabrication etc., can be made to be able to construct a bridge with heating etc., and can be acquired.

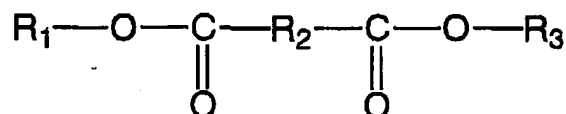
The elastin bridge formation object of this invention may contain the 3rd component other than water-soluble elastin and a cross linking agent. This component in particular is not limited. For this component, for example Collagen, gelatin, fibronectin, fibrin, Protein and polyglutamic acid, such as RAMININ, casein, a keratin, sericin, and thrombin, Polyamino acid, such as Pori lysine, polygalacturonic acid, heparin, Chondroitin sulfate, hyaluronic acid, dermatan sulfate, chondroitin, Dextran sulfate, sulfation cellulose, alginic acid, dextran, Carboxymethyl chitin, galactomannan, gum arabic, tragacanth gum, Gellant gum, sulfation Gelin, karaya gum, a carrageenan, agar, Xanthan gum, curdlan, a pull run, cellulose, a starch, carboxymethylcellulose, Methyl cellulose, soybean water solubility polysaccharide, glucomannan, chitin, chitosan, Sugar, such as xylo glucan and lentinan, bFGF (basic fibroblast growth factor), TGF-alpha (transformation growth factor alpha), EGF (epithelium growth factor), VEGF (intravascular hide growth factor), Cell growth factors, such as CTNF (ciliary nerve nutrition factor), other polymethyl methacrylate, Pori dimethylsiloxane, polytetrafluoroethylene, silicone, polyurethane, polyethylene terephthalate, polypropylene Compounds, such as polyethylene, Pori caprolactone, polypropylene ether, a polytetramethylene glycol, polyethylene glycol, polylactic acid, Pori vinyl alcohol, and Pori malic acid, can be mentioned. Even if it furthermore contains those one or more sorts, it is satisfactory in any way. Especially cell growth factors, such as extracellular-matrix components, such as collagen, gelatin, fibronectin, RAMININ, heparin, and chondroitin sulfate, and bFGF (basic fibroblast growth factor), are desirable in order to raise adhesion and growth of a cell.

As for the rate of the water-soluble elastin contained on the elastin bridge formation object of this invention, it is desirable that it is 0.5 to 99.5weight % of a range to an elastin bridge formation object. Furthermore, it is 1 to 95% preferably, and if it is this range, the Plastic solid with good moldability which has elasticity suitable for a living body can be acquired.

Water-soluble elastin is hydrophobic protein with which about 94% of full weight was formed from the hydrophobic amino acid and the amino acid (lysine, arginine, histidine) to which about 1% contains an amino group in a side chain. The water-soluble cross linking agent used for this invention reacts with the amino group of the side chain of water-soluble elastin, and if crosslinking reaction is carried out, even if it will be which water-soluble cross linking agent, it can be used. The compound which has a hydrophobic part to the molecule center field expressed with glutaraldehyde, ethylene glycidyl ether, etc. and a following general formula as

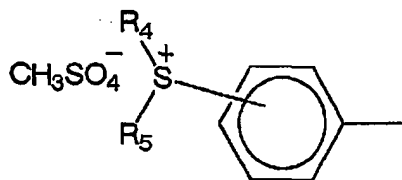
this water-soluble cross linking agent, and has an activity ester group in both ends can be mentioned. When the compound especially expressed with a following general formula is used as a cross linking agent, the Plastic solid with good moldability which has elasticity suitable for a living body can be acquired, and it is desirable.

<General formula>

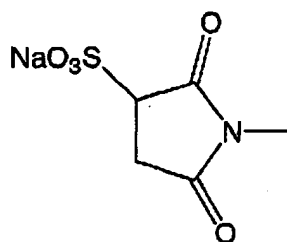


(R1 and R3 being in any of <A> expressed with the following constitutional formula, or , and differing, even if R3 are the same as R1)

<A>

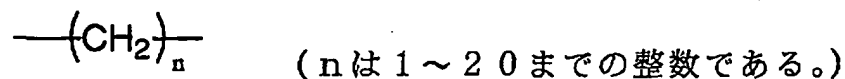


(R4 and R5 are H, CH3, or C2H5, and even if R5 are the same as R4, they may differ in them.)

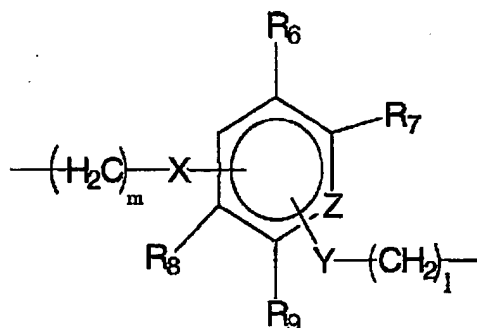


(R2 being a compound expressed with any of <C> or <D> which are expressed with the following constitutional formula they are)

<C>



<D>



([m and l are the integers to 0-15, and / X and Y]) It is in any of CH₂ or O, and even if they are the same, they may differ, and even if R₆, R₇, R₈, and R₉ are the same respectively, they may differ [Z is in any of C or N, and / X and Y are in any of H, CH₃, and C₂H₅, and] in them. The compound which has a hydrophobic part to a molecule center field forms elastin containing many hydrophobic amino acids and the structure firm and stabilized according to the canal interaction. However, although the compound containing many hydrophobic parts is meltable to an organic solvent, it becomes refractory in water, or insoluble, and it is hard to deal with it by a basin system. The water-soluble cross linking agent of this invention is the both ends of the dicarboxylic acid compound expressed with the above-mentioned general formula 4-hydroxyphenyldimethyl-sulfoniummethylsulf ate (4 hydroxyphenyl dimethyl sulfonium MECHIRUSARUFEITO:) Activity esterification is carried out by Following DSP, and it has the feature which dissolves in water and can be dealt with by a basin system, having the hydrophobic part which takes elastin containing many hydrophobic amino acids and the firm stable structure.

Moreover, the activity ester group of the both ends of the chemical formula carries out the peptide linkage of the water-soluble cross linking agent of this invention to the amino acid of water-soluble elastin, and it constructs a bridge. Therefore, the elastin bridge formation object acquired by having constructed the bridge by the water-soluble cross linking agent of this invention has the feature which is easy to receive biodegradation in the living body. Since it is related to the degree of cross linking of an elastin bridge formation object, the biodegradation rate is controllable by changing a cross-linking condition and changing a degree of cross linking.

Although the structure in particular of the elastin bridge formation object of this invention is not limited, it is desirable that it is the sponge structure of having an opening so that body fluid, culture medium, etc. can permeate. Although the size in particular of this opening is not limited, when the average diameter is less than 20 micrometers, it is easy to acquire a bridge formation object with it. [high Young's modulus (elastic modulus) and] [hard] Moreover, in the case of the range of 20 micrometers - 2mm, Young's modulus (elastic modulus) tends to

acquire the bridge formation object in which low high fabrication of a degree of swelling is possible.

Although the elastin bridge formation object of this invention is a bridge formation object which is excellent in elasticity, in order to make it easy to suit a living body for, its range of 1×10^2 to 1×10^7 Pa Young's modulus (elastic modulus) is desirable, and it is especially desirable. [of the range which is 1×10^3 to 2×10^6 Pa]

Although the form in particular of the elastin Plastic solid of this invention is not limited, it is desirable that they are filar, the shape of a film, a rod-like pellet type, or tube shape in application for a medical use.

Furthermore, the elastin bridge formation object of this invention may form a specific structure only by it, or may make components and complexes other than an elastin bridge formation object form. Moreover, you may use for surface coating of structures other than an elastin bridge formation object. Although not limited especially as a component in which a complex is made to form For example, collagen, gelatin, fibronectin, fibrin, RAMININ, Protein and polyglutamic acid, such as casein, a keratin, sericin, and thrombin, Polyamino acid, such as Pori lysine, polygalacturonic acid, heparin, Chondroitin sulfate, hyaluronic acid, dermatan sulfate, chondroitin, Dextran sulfate, sulfation cellulose, alginic acid, dextran, Carboxymethyl chitin, galactomannan, gum arabic, tragacanth gum, Gellant gum, sulfation Gelin, karaya gum, a carrageenan, agar, Xanthan gum, curdlan, a pull run, cellulose, a starch, carboxymethylcellulose, Methyl cellulose, soybean water solubility polysaccharide, glucomannan, chitin, chitosan, Sugar, such as xylo glucan and lentinan, bFGF (basic fibroblast growth factor), Cell growth factors, such as TGF- α (transformation growth factor α), EGF (epithelium growth factor), VEGF (intravascular hide growth factor), and CTNF (ciliary nerve nutrition factor), other polymethyl methacrylate, Pori dimethylsiloxane, polytetrafluoroethylene, silicone, Polyurethane, polyethylene terephthalate, polypropylene, polyethylene, Compounds, such as Pori caprolactone, polypropylene ether, a polytetramethylene glycol, polyethylene glycol, polylactic acid, Pori vinyl alcohol, and Pori malic acid, can be mentioned. Furthermore, you may use one or more sorts for these. The proliferation rate of an organization which can give living body functions which are not in elastin by this, such as cell adhesion nature and pit thrombus nature, and is made into the purpose can also be sped up.

Although the conditions in particular of the crosslinking reaction of water-soluble elastin and a water-soluble cross linking agent are not limited, as for reaction temperature, it is desirable that it is the range of 4-150 degrees C under the pressurization of ordinary pressure or an autoclave. The range of 10-120 degrees C is desirable especially from a point of the operativity of bridge formation. Moreover, when the elastin bridge formation object of this invention has the shape of sponge which has an opening, the diameter of an opening can be controlled by

controlling reaction temperature. For example, in the range whose reaction temperature is 4-50 degrees C, the average diameter of an opening can acquire a bridge formation object of 20 micrometers or more, and the average diameter of an opening can acquire the bridge formation object below 20 micrometers in the range which is 50-150 degrees C.

Especially the forming method of the elastin bridge formation object of this invention can be acquired using the mold for fabrication used for fabrication of a general synthetic resin, although not limited. For example, if it slushes into a molding machine and a bridge is made to heat and construct with an autoclave etc., after mixing the water-soluble cross linking agent of this invention with water-soluble elastin and considering it as a water-soluble elastin aqueous solution Elastin bridge formation objects, such as filar [reflecting the mold], the shape of a film, a rod-like pellet type, or tube shape, can be acquired.

Since the elastin bridge formation object of this invention has the elasticity of the same field as a living body, it is excellent in elasticity, and it can be effectively used as cosmetics and a medical supply. Although not necessarily limited especially, for example as cosmetics, it can use as a base material for face masks as skin care goods. What was fabricated and applied to parts, such as a catheter, a chantey, and wound coating material, although not necessarily limited especially as a medical supply will offer the flexible function which is not in the former. Moreover, when the medical device of this invention is embedded inside of the body by making these into the charge of regeneration medicine material, it becomes easy to increase the organization which considers it as the purpose favorably in a body. It is effective to the nerve cell and blood vessel which were especially mentioned above.

In order to increase cell-growth velocity furthermore and to improve biocompatibility, the function which is made to contain an elastin bridge formation object and the 3rd component, and is not in original elastin can also be given. For example, heparin and the cell growth factor which there is pit thrombus nature and carry out an interaction to a cell growth factor can be made to contain.

After making a bridge formation object form beforehand in addition to the time of producing an elastin bridge formation object as a raw material and making an elastin bridge formation object form, these 3rd component is infiltrated into the structure, or it may be made to dry after that and it may be made to adsorb physically. Furthermore, in order to stop de** of the 3rd component, you may fix chemically on this elastin bridge formation object.

The elastin bridge formation object of this invention can be used also as a gradual release carrier which is one of the DDS(s) (drug delivery system). Especially the elastin bridge formation object of this invention can obtain the sponge structure which has high Young's modulus (elastic modulus) and a high opening, and can demonstrate an effect for the therapy of a nerve, a blood vessel, etc.

Since it has the above functions and an effect, the medical supply of this invention is effective

especially when it uses for a surgical treatment method. For example, the collagen sheet to which blood coagulation components, such as fibrin and thrombin, were stuck is used for one side of the present sheet as adhesives for an arrest of hemorrhage after an operation. [this] although this aims at the synergistic effect of an arrest of hemorrhage according the bleeding part of the internal organs produced by operation to many blood coagulation components, and the arrest of hemorrhage by the physical pressure by a collagen film, and the ease of dealing with it with a sheet It was deficient in elasticity, and the collagen sheet did not have good sticking-by-pressure nature, when it applied to an organ like the heart which moves violently. By using the elastin bridge formation film of this invention for this, elasticity can obtain the film which can respond to a motion of an organ highly. Furthermore, if the elastin bridge formation film of this invention and the complex of collagen are made to form, the film with very high biocompatibility which has the feature of both elasticity which elastin has, and cell adhesion nature which collagen has will be obtained.

The elastin bridge formation object of this invention is embedded inside of the body as mentioned above, and it can use as a place of regeneration of a blood vessel or a nerve, and this function can be used also outside a body. That is, it becomes possible to make the organ of the form for which it wishes form in the membrane surface of this invention and an inner tube as culture-medium material for regeneration medicine by transplanting and culturing the oriented embryonal trunk (ES) cell, a somatic stem cell, a between leaf system stem cell, etc. Since moldability is also not only good but biodegradability, the elastin bridge formation object of this invention is cultivated to some extent, and can offer the regeneration medicine method of a cartridge type and regeneration organization which transplant the organ in which the form was made to form the whole culture-medium material.

EXAMPLE

This invention is explained in detail with a work example below. As long as there is no notice especially in this example, "weight %" is meant"%."

The example 1 (preparation of water-soluble elastin) of an experiment

150ml of 0.25M oxalic acid is added to powdered water-insoluble nature elastin (made by elastin product (Elastin product)) 20g, and 1 time processing is carried out at 100 degrees C. After cooling, centrifugal separation (3000rpm, 30min) is carried out, and supernatant liquids are collected, and it puts into a cellulose nature dialysis inner tube (molecular cutoff 6000-10,000), and dialyzes to deionized water for 48 hours, and oxalic acid is removed. It freeze-dried after that and water-soluble elastin was obtained. The amino-acid-analysis result of raw material elastin and water-soluble elastin was shown in Table 1.

[Table 1]

	エラスチン (mol%)	水溶性エラスチン (mol%)
アスパラギン酸	0.612	0.542
トレオニン	0.778	0.983
セリン	0.665	0.964
グルタミン酸	1.668	1.923
グリシン	33.22	30.869
アラニン	22.78	25.512
システイン	0.376	0.562
バリン	13.374	12.652
イソロイシン	2.568	2.249
ロイシン	6.235	6.001
チロシン	0.703	0.976
フェニルアラニン	2.967	3.023
リシン	0.279	0.381
ヒスチジン	0.037	0.063
アルギニン	0.516	0.68
ヒドロキシプロリン	1.168	1.007
プロリン	11.699	11.612
合計	100.00	100.00

The example 2 (an elastin bridge formation object is produced as a cross linking agent using glutaraldehyde) of an experiment

Add water-soluble elastin 90mg obtained in the example 1 of an experiment to 161micro of deionized water I, it was made to dissolve in it, and the water-soluble elastin aqueous solution was obtained. 48.7micro of 250mM glutaraldehyde aqueous solutions (made in Tokyo Chemicals) I were added to this aqueous solution, and the gel-like elastin bridge formation object was acquired immediately after. Although it tried to slush the elastin bridge formation object of the shape of this gel into the cylindrical template 2mm in diameter for fabrication, and 2cm in length, flowability was not able to slush small. Even if it lowered the amount of addition of the 250mM glutaraldehyde aqueous solution to above-mentioned 1/10 of quantity, it was difficult to slush into a template.

The example 3 (an elastin bridge formation object is produced as a cross linking agent using ethylene glycol diglycidyl ether) of an experiment

Add water-soluble elastin 36mg obtained in the example 1 of an experiment to 41.6micro of deionized water I, it was made to dissolve in it, and the water-soluble elastin aqueous solution was obtained. It was easy to add 42.4micro of 287mM ethylene-glycol-diglycidyl-ether aqueous solutions I to this aqueous solution, they were stirred in it, the solution was slushed into the

cylindrical template 2mm in diameter, and 2cm in length, it heated for 1 hour and 50 degrees C of gel-like elastin bridge formation objects were acquired. As a result of washing enough the elastin bridge formation object of the shape of an acquired gel by deionized water, and a finger's pulling both ends and doing a simple extension examination, it was easy to break to modification of extension.

The example 4 (an elastin bridge formation object is produced as a cross linking agent using a water-soluble carbodiimide) of an experiment

Add water-soluble elastin 50mg obtained in the example 1 of an experiment to 10.4micro of deionized water I, it was made to dissolve in it, and the water-soluble elastin aqueous solution was obtained. 10.4micro of 274mM water solubility carbodiimide (WSCD, peptide research institute company make) aqueous solutions I were added to this aqueous solution, and also it 24.4micro of 645mM adipic-acid aqueous-solution I Was easy to add, and stirred, and the elastin aqueous solution was created 30%. a result -- long chain dicarboxylic acid -- deionized water -- not dissolving (dissolving in an alkaline case, but reactivity with a carbodiimide being quick in that case -- too -- the dissolution -- it having been impossible to solidify in part, while it has been imperfect, and to have slushed into various templates (mold: a glass tube, type for film creation, etc.).)

The example 5 (an elastin bridge formation object is produced as a cross linking agent using light response nature succinimide ester) of an experiment

Water-soluble elastin 13mg and light response nature succinimide ester ([NHS-ASA and]) which were obtained in the example 1 of an experiment to 1ml of deionized water Add an N-hydroxy succinimidyl 4-horse mackerel door rutile acid (N-hydroxysuccinimidyl-4-Azidosalicylic Acid) and Pierce 4(PIERCE) mg, and it was made to dissolve, and was made to react at a room temperature for one day. The unreacted thing was removed and refined after the end of a reaction, and light response nature elastin 7mg was obtained. 20micro of deionized water I was added to this, it was considered as the light response nature elastin aqueous solution, and the 365nm ultraviolet radiation (UV) exposure was made the shape of a deed gel-izing for 90 minutes. After gelling was enough washed by deionized water. a result -- a cross linking agent -- water-insoluble nature -- it is -- a sake -- reactivity -- low -- the inside of an organic solvent -- elastin -- insolubilizing -- a sake -- too -- reactivity -- having been bad . Also about the optical exposure, when the concentration of an elastin aqueous solution was thin (several percent), UV light penetrated, but in order to concentrate at the reaction of only the exposure side of light in 10% or more of concentration, the gelling rate was bad, and the reaction within a template was almost impossible.

The example 6 (an elastin bridge formation object is produced as a cross linking agent using adipic acid succinimide ester) of an experiment

After adding water-soluble elastin 60mg obtained in the example 1 of an experiment to

119micro of deionized water I and making it dissolve in it, a 385mM adipic acid succinimide ester aqueous solution is 21microl Added, and this aqueous solution is slushed into a cylindrical template 2mm in diameter, and 2cm in length, and it heated for 1 hour and was made to gel at 80 degrees C. a result -- a cross linking agent -- a part -- insolubilizing -- **** -- a sake -- having generated -- a gel -- being weak (the form of the template not being made) . Since dodecane dicarboxylic acid succinimide ester was insoluble in water, it did not react. The example 7 (production of a water-soluble cross linking agent [A]) of an experiment Activity esterification of the carboxyl group of dicarboxylic acid was carried out by 4-hydroxyphenyldimethyl-sulfoniummethylsulf ate (4-hydroxyphenyl dimethyl sulfonium MECHIRUSARUFEITO: henceforth, DSP). The method reported to activity esterification by DSP by peptide chemistry etc. (using KKouge, T.Koizumi, H.Okai, and T.Kato.(1987) Bull.Chem.Soc.Jpn., 60, and 2409. (Chemical Society of Japan news magazine)) The following experiments were conducted.

Dodecane dicarboxylic acid (2.5mmol) and DSP (5mmol) are dissolved in acetonitrile (35ml) at 60 degrees C. dicyclohexylcarbodiimide after radiationnal cooling (dicyclohexylcarbodiimide: henceforth, DCC) (5mmol) was added, and it agitated at 25 degrees C for 5 hours. The glass filter filtered and removed the dicyclohexyl urea (following DC-Urea) produced during the reaction after that. Furthermore, ether (70ml) was made to trickle and solidify a reaction solution (filtrate). Reduced pressure drying of this solid matter was carried out, and water-soluble [cross linking agent A] 1.4g of this invention was obtained. The purity of the obtained cross linking agent was 98% in measurement by $^1\text{H-NMR}$ (JNM-EX-500, JEOL).

The example 8 (an elastin Plastic solid is produced using the water-soluble cross linking agent [A] obtained in the example 7 of an experiment as a cross linking agent) of an experiment Water-soluble elastin 200mg obtained in the example 1 of an experiment could be added to 1ml of deionized water, it agitated, and the water-soluble elastin aqueous solution was obtained 20%. The temperature of this aqueous solution was 25 degrees C, water-soluble [cross linking agent A] 72micromol (3 times the amount of the amount of amino groups of elastin in this aqueous solution (24micromol)) obtained in the example 7 of an experiment to this was added, and it agitated for 5 minutes. next, triethylamine -- 24micromol -- after agitating for 5 more minutes in addition, slushed into the cylindrical template 2mm in diameter, and 2cm in length, and put gently for two days, it was made to gel, and the cylindrical elastin Plastic solid which washes enough by deionized water and is rich in elasticity by milk white was acquired. Moreover, the sterilized elastin Plastic solid with which autoclave treatment is performed for 10 minutes at 110 degrees C, and change is not looked at by form in the acquired elastin Plastic solid was acquired. The result of having measured the Young's modulus of the acquired elastin Plastic solid using the tensile strength testing machine is shown in Table 2. However, measurement was performed underwater, using the acquired

elastin Plastic solid as it is. Moreover, the thing which carried out scanning microscope photography of the cutting plane of the acquired elastin Plastic solid by one 90 times the magnification of this is shown in drawing 1 . From the electron microscope photograph, the internal structure of the elastin bridge formation object was the sponge structure of having an opening, and the average diameter was 62 micrometers. The elastic modulus of the elastin bridge formation object with which openings differ was shown in Table 2.

[Table 2]

ゲル作成温度	弾性率 (25℃)	弾性率 (50℃)
20℃	1.2-3.5 · 10 ³ Pa	1.0-4.0 10 ³ Pa
50℃	1.5-7.8 10 ³ Pa	0.7-5.0 10 ³ Pa

The example 9 (a cross-linking condition is changed using the water-soluble cross linking agent [A] obtained in the example 7 of an experiment as a cross linking agent, and an elastin Plastic solid is produced) of an experiment

Except the temperature of this aqueous solution having been 50 degrees C, and having made settling time into 6 hours, crosslinking reaction and fabrication were performed according to manufacture of the example 8 of an experiment, and the cylindrical elastin Plastic solid which is rich in elasticity by milk white was acquired. The result of having measured the Young's modulus of the acquired elastin Plastic solid using the tensile strength testing machine is shown in Table 2. However, measurement was performed underwater, using the acquired elastin Plastic solid as it is. Moreover, the thing which carried out scanning microscope photography of the cutting plane of the acquired elastin Plastic solid by one 90 times the magnification of this is shown in drawing 2 . From the electron microscope photograph, the internal structure of the elastin bridge formation object was the sponge structure of having an opening, and the average diameter was 9 micrometers.

The example 10 (the elastin bridge formation object which made elastin content 1% of the whole, and its Plastic solid are produced) of an experiment

the water-soluble cross linking agent produced in the example 7 of an experiment after adding 148micro of deionized water I to water-soluble elastin 0.8mg and gelatin 72mg obtained in the example 1 of an experiment and making it dissolve -- 39microl (a cross linking agent is considerable the twice of the amount of amino groups of elastin) in addition, the water-soluble elastin aqueous solution was produced 30% 278 mM. This aqueous solution was slushed into the die, it heated with the autoclave for 120 degrees C and 30 minutes, and an elastin bridge formation object and its Plastic solid (drawing 3) were acquired.

The example 11 (the elastin bridge formation object which made elastin content 10% of the whole, and its Plastic solid are produced) of an experiment

the water-soluble cross linking agent produced in the example 7 of an experiment after adding

148micro of deionized water I to water-soluble elastin 8mg and gelatin 72mg obtained in the example 1 of an experiment and making it dissolve -- 39microl (a cross linking agent is considerable the twice of the amount of amino groups of elastin) in addition, the water-soluble elastin aqueous solution was produced 30% 278 mM. This aqueous solution was slushed into the die, it heated with the autoclave for 120 degrees C and 30 minutes, and an elastin bridge formation object and its Plastic solid (drawing 4) were acquired.

The example 12 (the elastin bridge formation object which made elastin content 90% of the whole, and its Plastic solid are produced) of an experiment the water-soluble cross linking agent produced in the example 7 of an experiment after adding 148micro of deionized water I to water-soluble elastin 72mg and gelatin 8mg obtained in the example 1 of an experiment and making it dissolve -- 39microl (a cross linking agent is considerable the twice of the amount of amino groups of elastin) in addition, the water-soluble elastin aqueous solution was produced 30% 278 mM. This aqueous solution was slushed into the die, it heated with the autoclave for 120 degrees C and 30 minutes, and an elastin bridge formation object and its Plastic solid (drawing 5) were acquired.

The example 13 (the gelatin bridge formation object which made elastin content 0% of the whole, and its Plastic solid are produced) of an experiment the water-soluble cross linking agent produced in the example 7 of an experiment after adding 148micro of deionized water I to gelatin 80mg and making it dissolve -- 39microl (a cross linking agent is considerable the twice of the amount of amino groups of elastin) in addition, the water-soluble elastin aqueous solution was produced 30% 278 mM. This aqueous solution was slushed into the die, it heated with the autoclave for 120 degrees C and 30 minutes, and an elastin bridge formation object, its Plastic solid, and its Plastic solid (drawing 6) were acquired.

When the result of the examples 10-13 of an experiment was summarized, and elastin content was 0%, swelling was large, but (it is underwater and swelled to about 2.3 times of the diameter of a template 6 hours afterward) the gel in which form became brave was formed from the gel of 1% content (drawing 7 : the elastin content 0 and 1, 10 or 90%). The bloating tendency of other gels was [in the 1% gel] about 1.1 times of a template in about 1.4 times of a template, and a 90% gel at about 1.5 times of a template, and a 10% gel.

The form stability is high as the content of elastin becomes high. When it is made to elongate, although it is unknown, it is tended to tear a gel with low content to pieces, and hardness of an elastic modulus is low.

The influence came out and the color of the gel was tinged with the yellow taste as content became high, since yellow [a water-soluble elastin solution].

The example 14 (a bridge formation raw material produces the elastin bridge formation object which contained sugar further, and its elastin Plastic solid) of an experiment

the water-soluble cross linking agent produced in the example 7 of an experiment after adding 148micro of deionized water I to water-soluble elastin 75mg and heparin 5mg obtained in the example 1 of an experiment and making it dissolve -- 39microl (a cross linking agent is considerable the twice of the amount of amino groups of elastin) in addition, the water-soluble elastin aqueous solution was produced 30% 278 mM. This aqueous solution was slushed into the die, it heated with the autoclave for 120 degrees C and 30 minutes, and an elastin bridge formation object and its Plastic solid (drawing 8) were acquired.

The example 15 (identification of heparin content) of an experiment

After washing the created gel enough by deionized water, it dyed in the 1% toluidine blue "0" aqueous solution. toluidine blue -- if "0" is combined with heparin -- blue -> -- it is dyed purple. It has checked that heparin was incorporated into the gel from drawing 9 .

The example 16 (production of an elastin film) of an experiment

Two slide glass which carried out RIPERU silanizing (silicon coat) is used. The mold for fabrication using the silicon rubber sheet as a spacer is prepared, the solution which mixed the water-soluble cross linking agent (it is 3 time mol to the amino group of elastin) produced in the 30% water solubility elastin aqueous solution obtained in the example 1 of an experiment and the example 7 of an experiment is slushed, and air and water were kept from entering from the exterior. Maintaining this state, underwater, it heat-treated for 30 minutes and 80 degrees C of elastin films (drawing 10) were obtained.

The example 17 (preparation of elastin various Plastic solids) of an experiment

The mold for [various] fabrication is prepared, the solution which mixed the water-soluble cross linking agent (it is 3 time mol to the amino group of elastin) produced in the water-soluble elastin aqueous solution and the example 7 of an experiment 30% is slushed, and air and water were kept from entering from the exterior. Maintaining this state, underwater, it heat-treated for 30 minutes and 80 degrees C of moldings of tube shape (drawing 11), and a filar (drawing 12) and a pellet type (drawing 13) were acquired.

The example 18 (the cell culture method and proliferation rate) of an experiment

The elastin film (0.5mm in thickness, 1cm x 1cm) was set on the plastics petri dish for tissue culture (six holes), 2ml of culture medium was added, and it put gently for 30 minutes at 37 degrees C. Culture medium is MEM Hanks. After adding 215ml of deionized water to 2.57g of powder and dissolving in it, 1.17ml and a glutamine solution (200mM) were added for the sodium bicarbonate solution (7.5%), 2.5ml addition and gentamycin 5ml and 25ml of fetal calf serum were added for 2.5ml and a nonessential-amino-acid solution, and it produced.

It is a nerve cell blastoma cell (after 100microl seeding's having carried out neuro-BURASUTOMA and IHR-32 (ATCC No.CCL-127) by 1.0×10^4 cell/ml concentration and carrying out an incubation at 37 degrees C for 24 hours, the number of cells was temporally measured in a cell Measurement Division board or direct observation.) to this.

As an object, the cell-growth nature at the time of using an albumin coat was evaluated. Moreover, culture media were exchanged every day. The number of times of an experiment was performed 3 times.

(Result) The rate of cell growth three days after cell seeding of elastin (sheet) is about 4 times. In the case of the albumin coat, the rate of cell growth three days after cell seeding was about 1.5 times. The proliferation profile was shown in drawing 14 .

The example 19 (elastin gel containing a fibrocyte growth factor (FGF) and heparin) of an experiment

After adding 1481micro of deionized water I to water-soluble elastin 75mg and heparin 5mg and making it dissolve, 39micro of water-soluble cross linking agents (278mM) I produced in the example 7 of an experiment are added, and an elastin aqueous solution is created 30%. It slushes into a die, and the solution was heated for 30 minutes and made to react at 120 degrees C (autoclave). After 0.1M phosphate buffer solution (pH 7.5) washed the created gel, it dipped in the 0.1M phosphate buffer solution (pH 7.5) containing a 2microg [/ml] basicity fibrocyte growth factor (bFGF) for 24 hours, and was made to stick to the heparin contained in the gel. The acquired moldings were shown in drawing 15 .

Industrial availability

Since the elastin bridge formation object of this invention is material with the elasticity which de** of cell adhesion nature protein does not happen, but may suit a live organ transplant, It has the effect which solves the problem that a rebirth of the organization of a problem, a nerve, a blood vessel, etc. from which this cell adhesion nature protein is desorbed is inadequate between the long-term therapies produced into the conventional material etc.

Moreover, since the elastin bridge formation object which has the elasticity in which any fabrication is possible will be acquired if the water-soluble cross linking agent of this invention constructs a bridge in water-soluble elastin and has a mold, It has the shape of yarn, the shape of a film, a rod-like pellet type, tube shape, and the effect that processes it into the charge of regeneration medicine material, medical-instrument material, etc. further, and enables use for a broad use for the Plastic solid.

Furthermore, since the elastin bridge formation object of this invention forms the sponge structure of having an opening, it can perform osmosis of drugs etc., and composite with other material easily, and has the effect which enables offer of the new charge of medical material.

[Brief Description of the Drawings]

Drawing 1 is the electron microscope photograph figure of the elastin bridge formation object of this invention of a work example 8 (it reacts at 25 degrees C).

Drawing 2 is the electron microscope photograph figure of the elastin bridge formation object of this invention of a work example 9 (it reacts at 50 degrees C).

Drawing 3 is the figure showing the elastin 1% gelatin bridge formation Plastic solid of a work

example 10.

Drawing 4 is the figure showing the elastin 10% gelatin bridge formation Plastic solid of a work example 11.

Drawing 5 is the figure showing the elastin 90% gelatin bridge formation Plastic solid of a work example 12.

Drawing 6 is the figure showing elastin 0% / gelatin bridge formation Plastic solid of a work example 13.

Drawing 7 is 0 to 90% of elastin / gelatin bridge formation Plastic solid comparison photograph figure.

Drawing 8 is the figure showing the heparin content elastin bridge formation Plastic solid of a work example 14.

Drawing 9 is the figure showing the heparin content confirmatory test of a work example 15.

Drawing 10 is the figure showing the sheet-like elastin bridge formation object of a work example 16.

Drawing 11 is the figure showing the sheet-like elastin bridge formation object of a work example 17.

Drawing 12 is the figure showing the filar elastin bridge formation object of a work example 17.

Drawing 13 is the figure showing the pellet type elastin bridge formation object of a work example 17.

Drawing 14 is the figure showing the growth curve of the nerve cell blastoma cell (IMR-32) on cell adhesion nature protein. The number of initial cells on the culture plate with which, as for the sign, gelatin (**), elastin (-), albumin (**), and No carried out the coat of the protein, and Nt mean the number of cells at the time of measurement.

Drawing 15 is the figure showing the fibroblast growth factor content elastin / heparin bridge formation object of a work example 19.

[Translation done.]

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02002/096978

発行日 平成17年4月14日(2005.4.14)

(43) 国際公開日 平成14年12月5日(2002.12.5)

(51) Int. Cl. ⁷

F 1

C08H 1/00
A61L 15/64
A61L 27/00
A61L 29/00
A61L 31/00

C08H 1/00
A61L 27/00 Q
A61L 29/00 T
A61L 31/00 T
C08K 5/00

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 29 頁) 最終頁に続く

出願番号	特願2003-500155 (P2003-500155)	(71) 出願人	501217178
(21) 国際出願番号	PCT/JP2002/005275		官本 啓一
(22) 国際出願日	平成14年5月30日(2002.5.30)		三重県久居市井戸山町145久居東住宅5-401
(31) 優先権主張番号	特願2001-163505 (P2001-163505)	(74) 代理人	100091731
(32) 優先日	平成13年5月30日(2001.5.30)		弁理士 高木 千嘉
(33) 優先権主張国	日本国(JP)	(74) 代理人	100080355
(81) 指定国	AP (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, C, H, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, P, L, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW	(74) 代理人	100127926
			弁理士 西村 公佑
		(74) 代理人	100127926
			弁理士 結田 純次
		(74) 代理人	100105290
			弁理士 三輪 昭次
		(72) 発明者	官本 啓一
			三重県久居市井戸山町145 久居東住宅5-401

(54) 【発明の名称】 エラスチン架橋体およびその製造方法

(57) 【要約】

本発明は、エラスチン架橋体、架橋に使用する水溶性架橋剤、エラスチン成形体、エラスチン架橋体を用いた医療用器具および再生組織、該医療用器具を用いた外科治療方法および再生医療に関する。

本発明は、細胞接着性タンパク質の脱離が起こらず、生体移植に適合し得る弾性を有する生体適合性機能性材料を提供するものである。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

水溶性エラスチンから選ばれた1種以上を含有する架橋原料が、水溶性架橋剤で架橋されてなるエラスチン架橋体。

【請求項2】

架橋原料がさらに、コラーゲン、ゼラチン、フィブロネクチン、フィブリン、ラミニン、カゼイン、ケラチン、セリシン、トロニンであるタンパク質、ポリグルタミン酸、ポリリジンであるポリアミノ酸、ポリガラクトチュロン酸、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デルマトン硫酸、コンドロイチン、デキストラン硫酸、硫酸化セルロース、アルギン酸、デキストラン、カルボキシメチルキチン、ガラクトマンナン、アラビアガム、トラガントガム、ジェランガム、硫酸化ジェラン、カラヤガム、カラギーナン、寒天、キサンタンガム、カードラン、プルラン、セルロース、デンプン、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、大豆水溶性多糖、グルコマンナン、キチン、キトサン、キシログルカン、レンチナンである糖質、bFGF（塩基性線維芽細胞増殖因子）、TGF- α （形質転換増殖因子 α ）、EGF（上皮増殖因子）、VEGF（血管内皮増殖因子）、CTNF（毛様体神経栄養因子）である細胞増殖因子、ポリメタクリル酸メチル、ポリジメチルシロキサン、ポリテトラフルオロエチレン、シリコン、ポリウレタン、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカプロラクトン、ポリプロピレンエーテル、ポリテトラメチレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、ポリビニールアルコール、およびポリリンゴ酸から選ばれた1種以上を含有する請求項1記載のエラスチン架橋体。

【請求項3】

水溶性エラスチンの含有率が0.5～99.5重量%の範囲である請求項1記載のエラスチン架橋体。

【請求項4】

ヤング率が $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^7$ Paの範囲のである請求項1記載のエラスチン架橋体。

【請求項5】

内部構造が空隙を有するスポンジ構造である請求項1記載のエラスチン架橋体。

【請求項6】

空隙の平均直径が $20 \mu\text{m}$ 未満の範囲である請求項5記載のエラスチン架橋体。

【請求項7】

空隙の平均直径が $20 \mu\text{m} \sim 2 \text{mm}$ の範囲である請求項5記載のエラスチン架橋体。

【請求項8】

コラーゲン、ゼラチン、フィブロネクチン、フィブリン、ラミニン、カゼイン、ケラチン、セリシン、トロニンであるタンパク質、ポリグルタミン酸、ポリリジンであるポリアミノ酸、ポリガラクトチュロン酸、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デルマトン硫酸、コンドロイチン、デキストラン硫酸、硫酸化セルロース、アルギン酸、デキストラン、カルボキシメチルキチン、ガラクトマンナン、アラビアガム、トラガントガム、ジェランガム、硫酸化ジェラン、カラヤガム、カラギーナン、寒天、キサンタンガム、カードラン、プルラン、セルロース、デンプン、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、大豆水溶性多糖、グルコマンナン、キチン、キトサン、キシログルカン、レンチナンである糖質、bFGF（塩基性線維芽細胞増殖因子）、TGF- α （形質転換増殖因子 α ）、EGF（上皮増殖因子）、VEGF（血管内皮増殖因子）、CTNF（毛様体神経栄養因子）である細胞増殖因子、ポリメタクリル酸メチル、ポリジメチルシロキサン、ポリテトラフルオロエチレン、シリコン、ポリウレタン、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカプロラクトン、ポリプロピレンエーテル、ポリテトラメチレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、ポリビニールアルコール、およびポリリンゴ酸から選ばれた1種以上が化学的に結合された請求項1または2記載のエラスチン架橋体。

【請求項 9】

化学的結合が架橋剤を用いた架橋である請求項 8 記載のエラスチン架橋体。

【請求項 10】

コラーゲン、ゼラチン、フィブロンectin、フィブリン、ラミニン、カゼイン、ケラチン、セリシン、トロンビンであるタンパク質、ポリグルタミン酸、ポリリジンであるポリアミノ酸、ポリガラクトクロン酸、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デルマトン硫酸、コンドロイチン、デキストラン硫酸、硫酸化セルロース、アルギン酸、デキストラン、カルボキシメチルキチン、ガラクトマンナン、アラビアガム、トラガントガム、ジェランガム、硫酸化ジェラン、カラヤガム、カラギーナン、寒天、キサンタンガム、カードラン、プルラン、セルロース、デンプン、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、大豆水溶性多糖、グルコマンナン、キチン、キトサン、キシログルカン、レンチナンである糖質、bFGF（塩基性線維芽細胞増殖因子）、TGF- α （形質転換増殖因子 α ）、EGF（上皮増殖因子）、VEGF（血管内皮増殖因子）、CTNF（毛様体神経栄養因子）である細胞増殖因子、ポリメタクリル酸メチル、ポリジメチルシロキサン、ポリテトラフルオロエチレン、シリコーン、ポリウレタン、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカプロラクトン、ポリプロピレンエーテル、ポリテトラメチレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、ポリビニールアルコール、およびポリリンゴ酸から選ばれた 1 種以上を含有する請求項 1、2 または 8 記載のエラスチン架橋体。

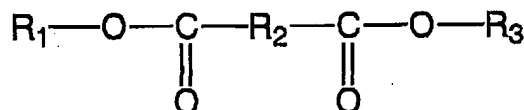
【請求項 11】

水溶性架橋剤が分子中心領域に疎水性部を有し、両末端にアミノ基と反応する活性エステル基を有する水溶性化合物である請求項 1 記載のエラスチン架橋体。

【請求項 12】

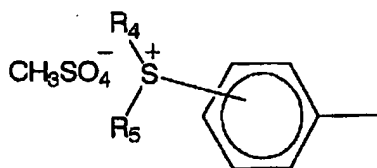
水溶性架橋剤が、下記一般式で表される水溶性化合物であることを特徴とする請求項 1 記載のエラスチン架橋体。

<一般式>

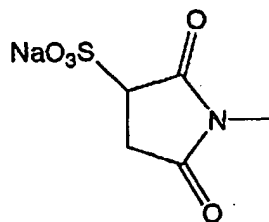


[R₁、R₃ は下記の構造式で表される<A>またはの何れかであり、R₁とR₃とは同じであっても異なってもよく、

<A>

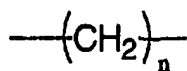


(R₄、R₅ は H、CH₃、C₂H₅ のいずれかであり、R₄とR₅とは同じであっても異なってもよい。)



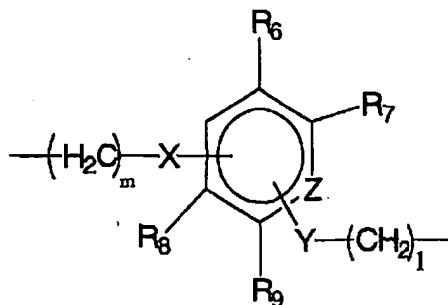
(R₂ は下記の構造式で表される<C>または<D>の何れかで表される化合物であり、)

<C>



(nは1~20までの整数である。)

< D >



10

(m、1は0~15までの整数であり、X、Yは、CH₂またはOの何れかであり、XとYとは同じであっても異なってもよく、ZはCまたはNの何れかであり、R₆、R₇、R₈、R₉は、H、CH₃、C₂H₅の何れかであり、それぞれ同じであっても異なっても良い。)

【請求項13】

請求項1~12の何れか1項記載のエラスチン架橋体からなるエラスチン成形体。

【請求項14】

形状が、糸状、膜状、棒状、ペレット状またはチューブ状である請求項13記載のエラスチン成形体。

20

【請求項15】

請求項1記載のエラスチン架橋体を用いた医療用器具。

【請求項16】

請求項15記載の医療用器具を用いることを特徴とする外科治療方法。

【請求項17】

請求項1記載のエラスチン架橋体、請求項15記載の医療用器具を用いることを特徴とする再生医療。

【請求項18】

請求項1記載のエラスチン架橋体を用いて得られた再生組織。

30

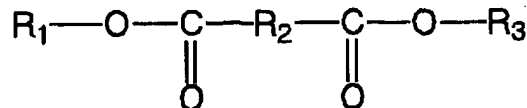
【請求項19】

分子中心領域に疎水性部を有し、両末端にアミノ基と反応する活性エステル基を有する水溶性化合物を含有する架橋剤。

【請求項20】

化合物が、下記一般式で表される化合物である請求項19記載の架橋剤。

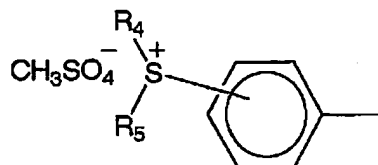
<一般式>



(R₁、R₃は下記の構造式で表される<A>またはの何れかであり、R₁とR₃とは同じであっても異なってもよく、)

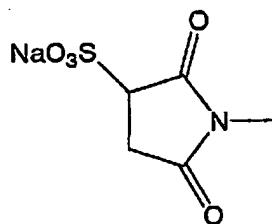
40

<A>



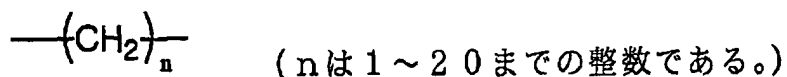
(R₄、R₅はH、CH₃、C₂H₅のいずれかであり、R₄とR₅とは同じであっても異なってもよい。)

50

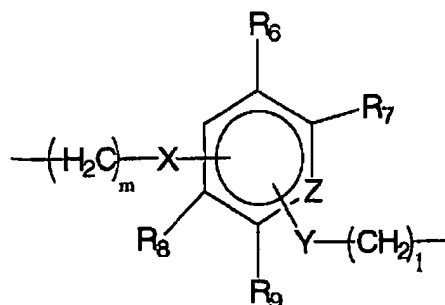


(R_2 は下記の構造式で表される<C>または<D>の何れかで表される化合物であり、)

<C>



<D>



(m 、 l は 0 ~ 15 までの整数であり、 X 、 Y は、 CH_2 または O の何れかであり、 X と Y とは同じであっても異なってもよく、 Z は C または N の何れかであり、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 は、 H 、 CH_3 、 C_2H_5 の何れかであり、それぞれ同じであっても異なっても良い。)

【請求項 21】

請求項 19 記載の水溶性架橋剤を用いた架橋反応により、水溶性エラスチンを架橋することを特徴とするエラスチン架橋体の製造方法。

【請求項 22】

架橋反応時の反応温度が 4 ~ 150 °C の範囲であることを特徴とする請求項 21 記載のエラスチン架橋体の製造方法。

【発明の詳細な説明】

技術分野

本発明は、生体適合性機能性材料、およびその製造方法、医療用器具、架橋剤、外科治療方法、さらに再生組織に関する。

背景技術

事故、災害その他の理由で神経組織が切断された患者に対する治療方法の一つとして、人工材料によるチューブを神経欠損部に連結して、該チューブ内に神経組織の再生を誘導する方法が行われている。該チューブとしては、シリコン、ポリウレタン、ポリエステル、ポリエチレンテレフタレート、アルギン酸、ポリ乳酸等のチューブの内面を、コラーゲンやラミニンなどの細胞接着性タンパク質をコーティングしたものが用いられている。

また、血管が切断された患者に対する治療方法の一つとして、シリコン、ポリウレタン、ポリエステルなどの合成高分子繊維を編んだ布を管状とし、その内面をコラーゲンやラミニンなどの細胞接着性タンパク質をコーティングした人工血管を、血管切断部位に移植し、該人工血管内部に内皮細胞を誘導させる方法が行われている。

発明の開示

前述のシリコンチューブやポリウレタンチューブなどの内面は、細胞接着性がないためこれまでは、コラーゲンやラミニンなどの細胞接着性タンパク質をコーティングしたチューブや該人工血管を、前述のような治療方法に用いた場合には、長期の治療の間に該細胞

10

20

30

40

50

接着性タンパク質が脱離し、神経や血管などの組織の再生が不十分であった。

さらに、動物内に移植するチューブや人工血管には、人体および各組織の動きに連動するだけの弾性が求められているが、シリコンやポリエステルを主原料とするチューブや人工血管のヤング率（弾性率）は、適応された組織のヤング率（弾性率）が $1 \times 10^4 \sim 2 \times 10^6$ Pa であるのに対し、 1×10^7 Pa 以上であるため、接合部に強いストレスが起こり、その結果、血栓が生じるなどの問題を抱えており、人体の組織と同じ弾性を有する材料が求められていた。

本発明者は前述の従来技術の課題に鑑み鋭意研究を重ねた結果、水溶性エラスチンを架橋剤により架橋することにより、コーティングしたコラーゲンやラミニン等の細胞接着性タンパク質の脱離が起こらず、生体の移植に適合し得るだけの弾性を有するエラスチン架橋体を得ることができることを見出し、この知見に基づいて本発明を完成させた。

本発明は下記の構成を有する。

(1) 水溶性エラスチンから選ばれた1種以上を含有する架橋原料が、水溶性架橋剤で架橋されてなるエラスチン架橋体。

(2) 架橋原料がさらにコラーゲン、ゼラチン、フィブロンネクチン、フィブリン、ラミニン、カゼイン、ケラチン、セリシン、トロニンであるタンパク質、ポリグルタミン酸、ポリリジンであるポリアミノ酸、ポリガラクトチュロン酸、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デルマトン硫酸、コンドロイチン、デキストラン硫酸、硫酸化セルロース、アルギン酸、デキストラン、カルボキシメチルキチン、ガラクトマンナン、アラビアガム、トラガントガム、ジェランガム、硫酸化ジェラン、カラヤガム、カラギーナン、寒天、キサントガム、カードラン、プルラン、セルロース、デンプン、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、大豆水溶性多糖、グルコマンナン、キチン、キトサン、キシログルカン、レンチナンである糖質、bFGF（塩基性線維芽細胞増殖因子）、TGF- α （形質転換増殖因子 α ）、EGF（上皮増殖因子）、VEGF（血管内皮増殖因子）、CTNF（毛様体神経栄養因子）である細胞増殖因子、ポリメタクリル酸メチル、ポリジメチルシロキサン、ポリテトラフルオロエチレン、シリコン、ポリウレタン、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカプロラクトン、ポリプロピレンエーテル、ポリテトラメチレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、ポリビニールアルコール、およびポリリンゴ酸から選ばれた1種以上を含有する(1)記載のエラスチン架橋体。

(3) 水溶性エラスチンの含有率が0.5～99.5重量%の範囲である(1)記載のエラスチン架橋体。

(4) ヤング率が $1 \times 10^2 \sim 1 \times 10^7$ Pa の範囲である(1)記載のエラスチン架橋体。

(5) 内部構造が空隙を有するスポンジ構造である(1)記載のエラスチン架橋体。

(6) 空隙の平均直径が $20 \mu\text{m}$ 未満の範囲である(5)記載のエラスチン架橋体。

(7) 空隙の平均直径が $20 \mu\text{m} \sim 2 \text{mm}$ の範囲である(5)記載のエラスチン架橋体。

(8) コラーゲン、ゼラチン、フィブロンネクチン、フィブリン、ラミニン、カゼイン、ケラチン、セリシン、トロニンであるタンパク質、ポリグルタミン酸、ポリリジンであるポリアミノ酸、ポリガラクトチュロン酸、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デルマトン硫酸、コンドロイチン、デキストラン硫酸、硫酸化セルロース、アルギン酸、デキストラン、カルボキシメチルキチン、ガラクトマンナン、アラビアガム、トラガントガム、ジェランガム、硫酸化ジェラン、カラヤガム、カラギーナン、寒天、キサントガム、カードラン、プルラン、セルロース、デンプン、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、大豆水溶性多糖、グルコマンナン、キチン、キトサン、キシログルカン、レンチナンである糖質、bFGF（塩基性線維芽細胞増殖因子）、TGF- α （形質転換増殖因子 α ）、EGF（上皮増殖因子）、VEGF（血管内皮増殖因子）、CTNF（毛様体神経栄養因子）である細胞増殖因子、ポリメタクリル酸メチル、ポリジメチルシロキサン、ポリテトラフルオロエチレン、シリコン、ポリウレタン、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカプロラクトン、ポリプロピレンエーテル、ポ

リテトラメチレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、ポリビニールアルコール、およびポリリンゴ酸から選ばれた１種以上が化学的に結合されてなる（１）または（２）記載のエラスチン架橋体。

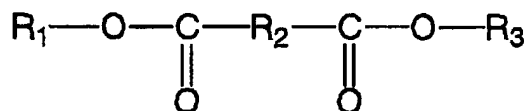
（９）化学的結合が架橋剤を用いた架橋である（８）記載のエラスチン架橋体。

（１０）コラーゲン、ゼラチン、フィブロネクチン、フィブリン、ラミニン、カゼイン、ケラチン、セリシン、トロニンであるタンパク質、ポリグルタミン酸、ポリリジンであるポリアミノ酸、ポリガラクトチュロン酸、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デルマトン硫酸、コンドロイチン、デキストラン硫酸、硫酸化セルロース、アルギン酸、デキストラン、カルボキシメチルキチン、ガラクトマンナン、アラビアガム、トラガントガム、ジェランガム、硫酸化ジェラン、カラヤガム、カラギーナン、寒天、キサンタンガム、カードラン、プルラン、セルロース、デンプン、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、大豆水溶性多糖、グルコマンナン、キチン、キトサン、キシログルカン、レンチナンである糖質、bFGF（塩基性線維芽細胞増殖因子）、TGF- α （形質転換増殖因子 α ）、EGF（上皮増殖因子）、VEGF（血管内皮増殖因子）、CTNF（毛様体神経栄養因子）である細胞増殖因子、ポリメタクリル酸メチル、ポリジメチルシロキサン、ポリテトラフルオロエチレン、シリコン、ポリウレタン、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカプロラクトン、ポリプロピレンエーテル、ポリテトラメチレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、ポリビニールアルコール、およびポリリンゴ酸から選ばれた１種以上を含有する（１）、（２）または（８）記載のエラスチン架橋体。

（１１）水溶性架橋剤が分子中心領域に疎水性部を有し、両末端にアミノ基と反応する活性エステル基を有する水溶性化合物である（１）記載のエラスチン架橋体。

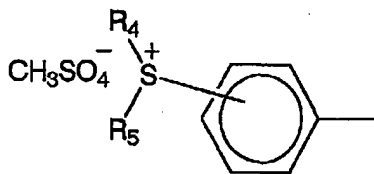
（１２）水溶性架橋剤が、下記一般式で表される水溶性化合物であることを特徴とする（１）記載のエラスチン架橋体。

<一般式>



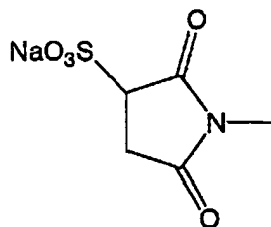
（ R_1 、 R_3 は下記の構造式で表される< A >または< B >の何れかであり、 R_1 と R_3 とは同じであっても異なってもよく、）

< A >



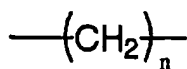
（ R_4 、 R_5 は H、 CH_3 、 C_2H_5 のいずれかであり、 R_4 と R_6 とは同じであっても異なってもよい。）

< B >



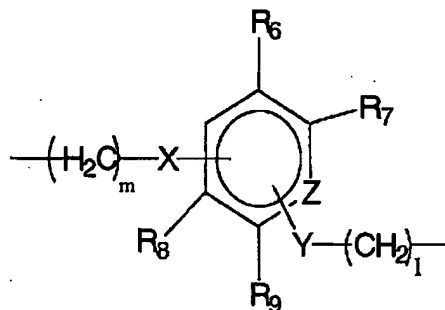
（ R_2 は下記の構造式で表される< C >または< D >の何れかで表される化合物であり、）

< C >



(nは1~20までの整数である。)

< D >



10

(m、1は0~15までの整数であり、X、Yは、CH₂またはOの何れかであり、XとYとは同じであっても異なってもよく、ZはCまたはNの何れかであり、R₆、R₇、R₈、R₉は、H、CH₃、C₂H₅の何れかであり、それぞれ同じであっても異なっても良い。)

(13) (1)~(12)の何れか1項記載のエラスチン架橋体からなるエラスチン成形体。

(14) 形状が、糸状、膜状、棒状、ペレット状またはチューブ状である(13)記載のエラスチン成形体。

20

(15) (1)記載のエラスチン架橋体を用いた医療用器具。

(16) (15)記載の医療用器具を用いることを特徴とする外科治療方法。

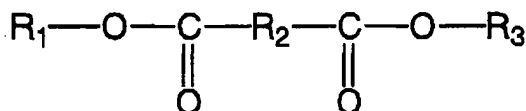
(17) (1)記載のエラスチン架橋体、(15)記載の医療用器具を用いることを特徴とする再生医療。

(18) (1)記載のエラスチン架橋体を用いて得られた再生組織。

(19) 分子中心領域に疎水性部を有し、両末端にアミノ基と反応する活性エステル基を有する水溶性化合物を含有する架橋剤。

(20) 化合物が、下記一般式で表される化合物である(19)記載の架橋剤。

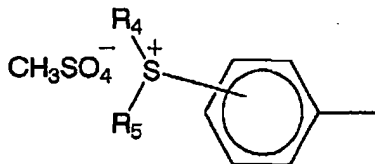
<一般式>



30

(R₁、R₃は下記の構造式で表される<A>またはの何れかであり、R₁とR₃とは同じであっても異なってもよく、)

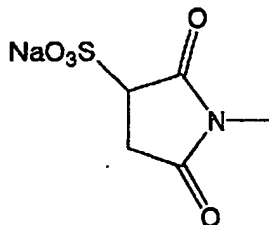
< A >



40

(R₄、R₅はH、CH₃、C₂H₅のいずれかであり、R₄とR₅とは同じであっても異なってもよい。)

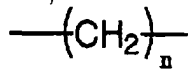
< B >



50

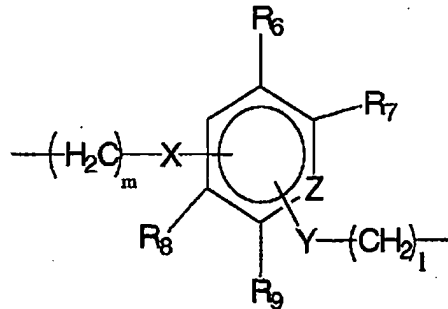
(R_2 は下記の構造式で表される $\langle C \rangle$ または $\langle D \rangle$ の何れかで表される化合物であり、)

$\langle C \rangle$



(n は 1 ~ 20 までの整数である。)

$\langle D \rangle$



10

(m 、 l は 0 ~ 15 までの整数であり、 X 、 Y は、 CH_2 または O の何れかであり、 X と Y とは同じであっても異なってもよく、 Z は C または N の何れかであり、 R_6 、 R_7 、 R_8 、 R_9 は、 H 、 CH_3 、 C_2H_5 の何れかであり、それぞれ同じであっても異なっても良い。)

(21) (19) 記載の水溶性架橋剤を用いた架橋反応により、水溶性エラスチンを架橋することを特徴とするエラスチン架橋体の製造方法。

20

(22) 架橋反応時の反応温度が 4 ~ 150 °C の範囲であることを特徴とする (21) 記載のエラスチン架橋体の製造方法。

発明の実施の形態

本発明に使用する水溶性エラスチンとは特に限定されるものではないが、エラスチンを加水分解して得られるものであり、具体的には、動物の頸靱帯などを熱シュウ酸処理して得られる α -エラスチン若しくは β -エラスチン、エラスチンをアルカリエタノール処理して得られる κ -エラスチン、エラスターゼにより酵素処理した水溶性エラスチンおよびエラスチン生合成経路における前駆体であるトロポエラスチンなどの少なくとも 1 種以上のエラスチンを使用することができる。トロポエラスチンは特に限定されるものではなく動物細胞からの抽出物でも、遺伝子組換え法により得られるトロポエラスチン遺伝子産物の少なくとも 1 種類以上を使用することができる。

30

弾性タンパク質であるエラスチンは、通常、生体内において、大動脈や声帯など弾性が要求される体内組織に多く存在する。生体内に存在するエラスチンは、疎水性アミノ酸の含有量が多いことと、デスモシン、イソデスモシンなどの強固な架橋構造を有することから水不溶性の性質を持つ。該エラスチンは、こうした架橋構造により油状コイルと呼ばれる特有の構造を形成するために弾性を有している。

本発明のエラスチン架橋体は、生体内エラスチンの架橋構造を分解し水溶性にした水溶性エラスチンから選ばれた 1 種以上を水溶性架橋剤で架橋して得ることができる。また本発明のエラスチン成形体は、前述の水溶性エラスチンと水溶性架橋剤を混ぜ合わせ水溶性エラスチン水溶液とした後、成形用のテンプレートなどに流し込み、加熱などで架橋させて得ることができる。

40

本発明のエラスチン架橋体は、水溶性エラスチンおよび架橋剤以外の第 3 成分を含有するものであってもよい。該成分は特に限定されるものではない。該成分には、例えばコラーゲン、ゼラチン、フィブロネクチン、フィブリン、ラミニン、カゼイン、ケラチン、セリシン、トロニンなどのタンパク質やポリグルタミン酸、ポリリジンなどのポリアミノ酸、ポリガラクトクチュロン酸、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デルマトン硫酸、コンドロイチン、デキストラン硫酸、硫酸化セルロース、アルギン酸、デキストラン、カルボキシメチルキチン、ガラクトマンナン、アラビアガム、トラガントガム、ジェランガム、硫酸化ジェラン、カラヤガム、カラギーナン、寒天、キサンタンガム、カードラ

50

ン、プルラン、セルロース、デンプン、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、大豆水溶性多糖、グルコマンナン、キチン、キトサン、キシログルカン、レンチナン等の糖質、bFGF（塩基性線維芽細胞増殖因子）、TGF- α （形質転換増殖因子 α ）、EGF（上皮増殖因子）、VEGF（血管内皮増殖因子）、CTNF（毛様体神経栄養因子）などの細胞増殖因子、その他ポリメタクリル酸メチル、ポリジメチルシロキサン、ポリテトラフルオロエチレン、シリコーン、ポリウレタン、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカプロラクトン、ポリプロピレンエーテル、ポリテトラメチレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、ポリビニールアルコール、ポリリンゴ酸などの化合物を挙げることができる。さらにはそれらの1種以上を含有しても何ら問題はない。特にコラーゲン、ゼラチン、フィブロンネクチン、ラミニン、ヘパリン、コンドロイチン硫酸など細胞外マトリクス成分やbFGF（塩基性線維芽細胞増殖因子）などの細胞増殖因子は細胞の接着および増殖を高めるために好ましい。

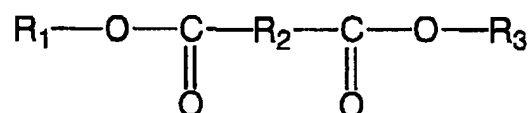
10

本発明のエラスチン架橋体に含有する水溶性エラスチンの割合は、エラスチン架橋体に対して0.5～99.5重量%の範囲であることが好ましい。更に好ましくは1～95%であり、この範囲であれば生体に適した弾性を有する成形性良好な成形体を得ることができる。

水溶性エラスチンは、全重量の約94%が疎水性アミノ酸、約1%が側鎖にアミノ基を含むアミノ酸（リジン、アルギニン、ヒスチジン）で形成された疎水性タンパク質である。本発明に使用する水溶性架橋剤は、水溶性エラスチンの側鎖のアミノ基と反応し、架橋反応するものであれば何れの水溶性架橋剤であっても使用することができる。該水溶性架橋剤としては例えば、グルタルアルデヒド、エチレングリシジルエーテルなどや下記一般式で表される分子中心領域に疎水性部を有し、両末端に活性エステル基を有する化合物などを挙げることができる。中でも下記一般式で表される化合物を架橋剤として用いると、生体に適した弾性を有する成形性良好な成形体を得ることができ好ましい。

20

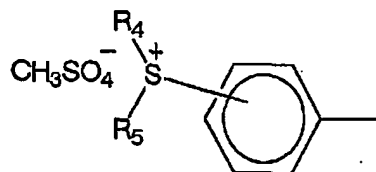
<一般式>



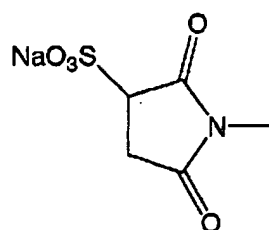
（ R_1 、 R_3 は下記の構造式で表される<A>またはの何れかであり、 R_1 と R_3 とは同じであっても異なってもよく、）

30

<A>



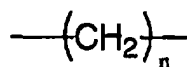
（ R_4 、 R_5 はH、 CH_3 、 C_2H_5 のいずれかであり、 R_4 と R_5 とは同じであっても異なってもよい。）



40

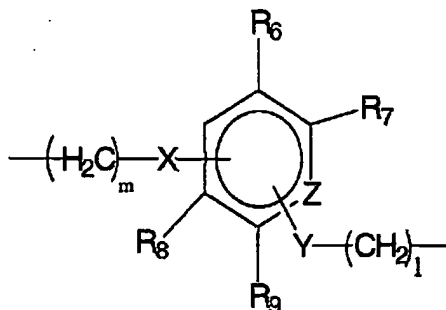
（ R_2 は下記の構造式で表される<C>または<D>の何れかで表される化合物であり、）

<C>



(nは1～20までの整数である。)

< D >



10

(m、lは0～15までの整数であり、X、Yは、CH₂またはOの何れかであり、XとYとは同じであっても異なってもよく、ZはCまたはNの何れかであり、R₆、R₇、R₈、R₉は、H、CH₃、C₂H₅の何れかであり、それぞれ同じであっても異なっても良い。)

分子中心領域に疎水性部を有する化合物は、疎水性アミノ酸を多く含むエラスチンと、疎水相互作用により強固で安定した構造体を形成する。しかし、疎水性部を多く含む化合物は、有機溶媒には可溶ではあるが、水に難溶または不溶となり水系で取り扱いにくい。本発明の水溶性架橋剤は上記一般式で表されるジカルボン酸化合物の両末端を4-hydroxyphenyldimethylsulfoniummethylsulfate (4ヒドロキシフェニルジメチルスルホニウムメチルサルフェイト：以下DSP)で活性エステル化させたもので、疎水性アミノ酸を多く含むエラスチンと強固な安定した構造体を取る疎水性部を有しながら、かつ水に溶解し水系で取り扱える特徴を有するものである。

20

また本発明の水溶性架橋剤は、その化学式の両末端の活性エステル基が、水溶性エラスチンのアミノ酸とペプチド結合し、架橋する。従って、本発明の水溶性架橋剤により架橋して得られたエラスチン架橋体は、生体内で生分解を受け易い特徴を有する。その生分解速度は、エラスチン架橋体の架橋度と関係するため、架橋条件を変え架橋度を変えることにより制御することができる。

30

本発明のエラスチン架橋体の構造は、特に限定するものではないが、体液や培養液などが浸透できるように空隙を有するスポンジ構造であることが好ましい。該空隙の大きさは特に限定されるものではないが、その平均直径が20μm未満の場合、ヤング率(弾性率)が高く硬い架橋体を得やすい。また、20μm～2mmの範囲の場合、ヤング率(弾性率)が低く膨潤度の高い成形可能な架橋体を得やすい。

本発明のエラスチン架橋体は、弾性に優れる架橋体であるが、生体に適合し易くするためにヤング率(弾性率)1×10²～1×10⁷Paの範囲が好ましく、特に1×10³～2×10⁶Paの範囲が好ましい。

本発明のエラスチン成形体の形状は特に限定されるものではないが、医療用途への適用では、糸状、膜状、棒状、ペレット状またはチューブ状などであることが好ましい。

40

さらに、本発明のエラスチン架橋体は、それのみで特定の構造体を形成してもよく、あるいはエラスチン架橋体以外の成分と複合体を形成させても良い。また、エラスチン架橋体以外の構造体の表面コーティングに用いても良い。複合体を形成させる成分としては、特に限定されるものではないが、例えばコラーゲン、ゼラチン、フィブロネクチン、フィブリリン、ラミニン、カゼイン、ケラチン、セリシン、トロニンなどのタンパク質やポリグルタミン酸、ポリリジンなどのポリアミノ酸、ポリガラクトuron酸、ヘパリン、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、デルマトン硫酸、コンドロイチン、デキストラン硫酸、硫酸化セルロース、アルギン酸、デキストラン、カルボキシメチルキチン、ガラクトマンナン、アラビアガム、トラガントガム、ジェランガム、硫酸化ジェラン、カラヤガム、カラギーナン、寒天、キサンタンガム、カードラン、プルラン、セルロース、デンプン、カル

50

ボキシメチルセルロース、メチルセルロース、大豆水溶性多糖、グルコマンナン、キチン、キトサン、キシログルカン、レンチナン等の糖質、bFGF（塩基性線維芽細胞増殖因子）、TGF- α （形質転換増殖因子 α ）、EGF（上皮増殖因子）、VEGF（血管内皮増殖因子）、CTNF（毛様体神経栄養因子）などの細胞増殖因子、その他ポリメタクリル酸メチル、ポリジメチルシロキサン、ポリテトラフルオロエチレン、シリコン、ポリウレタン、ポリエチレンテレフタレート、ポリプロピレン、ポリエチレン、ポリカプロラクトン、ポリプロピレンエーテル、ポリテトラメチレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリ乳酸、ポリビニールアルコール、ポリリンゴ酸などの化合物を挙げることができる。さらにはこれらを1種以上を用いてもよい。これによりエラスチンにない細胞接着性や抗血栓性等の生体機能を付与でき、また目的とする組織の増殖速度を速めることもできる。

10

水溶性エラスチンと水溶性架橋剤との架橋反応の条件は特に限定されるものではないが、反応温度は常圧またはオートクレーブなどの加圧下で4～150℃の範囲であることが好ましい。特に架橋の操作性の点から10～120℃の範囲が好ましい。また本発明のエラスチン架橋体が空隙を有するスポンジ状である場合には、反応温度を制御することにより、空隙の直径を制御することができる。例えば、反応温度が4～50℃の範囲では、空隙の平均直径が20 μ m以上の架橋体を得ることができ、50～150℃の範囲では空隙の平均直径が20 μ m未満の架橋体を得ることができる。

本発明のエラスチン架橋体の成形方法は特に限定されるものではないが、一般的な合成樹脂の成形に用いられる成形用の型を用いて得ることができる。例えば水溶性エラスチンと本発明の水溶性架橋剤を混ぜ合わせ、水溶性エラスチン水溶液とした後、成形器に流し込み、オートクレーブなどで加熱し架橋させると、その鋳型を反映した糸状、膜状、棒状、ペレット状またはチューブ状などのエラスチン架橋体を得ることができる。

20

本発明のエラスチン架橋体は、生体と同じ領域の弾性を有するため伸縮性に優れ、化粧品、医療用具として有効に用いることができる。特に限定されるわけではないが、例えば化粧品としては、スキンケア商品としてのフェイスマスク用基材として利用できる。医療用具としても特に限定されるわけではないがカテーテル、シャント、創傷被覆剤等の部品に成形し適用したものは、従来にない柔軟な機能を提供することとなる。

またこれらを再生医療用材料として本発明の医療器具を体内に埋め込んだ場合には、目的とする組織が体内で順調に増殖し易くなる。特に前述した神経細胞や血管に対して有効である。

30

さらに細胞増殖速度を速め、生体適合性を改善するために、エラスチン架橋体と第3成分を含有させて本来のエラスチンにはない機能を付与することもできる。例えば、抗血栓性があり細胞増殖因子と相互作用するヘパリンや細胞増殖因子を含有させることができる。これらの第3成分は、エラスチン架橋体を作製するときに、予め原料として加えておき架橋体を形成させてもよく、またエラスチン架橋体を形成させた後、その構造体に含浸させたり、その後乾燥させて物理的に吸着させたりしても良い。また更には、第3成分の脱理を抑えるために該エラスチン架橋体に化学的に固定化しても良い。

本発明のエラスチン架橋体はDDS（ドラッグ・デリバリー・システム）の一つである徐放担体としても使用できる。特に本発明のエラスチン架橋体は高いヤング率（弾性率）と空隙を有するスポンジ構造体を得ることができ、神経、血管などの治療に効果を発揮することができる。

40

本発明の医療用具は、前述のような機能、効果を有することから、外科治療法に用いた場合には特に有効である。例えば現在シートの片面にフィブリン、トロンビン等の血液凝固成分を固着させたコラーゲンシートが、手術後の止血用接着剤として用いられている。これは、手術によって生じた内臓の出血個所をシートで多い、血液凝固成分による止血とコラーゲン膜による物理的圧迫による止血の相乗効果と、取扱い易さを狙ったものであるが、コラーゲンシートは伸縮性が乏しく、心臓のような激しく動く臓器に適用した場合、圧着性が良くなかった。これに本発明のエラスチン架橋膜を使用することで、伸縮性が高く臓器の動きに対応できる膜を得ることができる。また更には、本発明のエラスチン架橋膜

50

とコラーゲンの複合体を形成させれば、エラスチンの持つ伸縮性とコラーゲンの持つ細胞接着性の両者の特徴を有する、極めて生体適合性の高い膜が得られる。

本発明のエラスチン架橋体は、前述の様に体内に埋め込み、血管や神経の再生の場としても利用できるが、この機能を体外でも利用することができる。すなわち、再生医療用培養基材として、本発明の膜表面、チューブ内に、方向付けされた胚性幹（ES）細胞、体性幹細胞、間葉系幹細胞などを移植、培養することで、希望する形態の臓器を形成させることが可能となる。本発明のエラスチン架橋体は、成形性が良いだけでなく生分解性でもあるため、ある程度培養し、形を形成させた臓器を培養基材ごと移植するカートリッジ型の再生医療方法と再生組織を提供できる。

実施例

以下実施例をもって本発明を詳細に説明する。本実施例においては特に断りがない限り「%」は「重量%」を意味する。

実験例 1（水溶性エラスチンの調製）

粉末状水不溶性エラスチン（エラスチン・プロダクト（Elastin product）社製）20g に対し 0.25M シュウ酸 150ml を加え、100℃にて1時間処理する。冷却後、遠心分離（3000rpm, 30min）し、上澄みを集めセルロース性透析チューブ（分画分子量6千～1万）に入れ、脱イオン水に対して48時間透析しシュウ酸を除去する。その後凍結乾燥して水溶性エラスチンを得た。原料エラスチンと水溶性エラスチンのアミノ酸分析結果を表1に示した。

【表1】

	エラスチン (mol%)	水溶性エラスチン (mol%)
アスパラギン酸	0.612	0.542
トレオニン	0.778	0.983
セリン	0.665	0.964
グルタミン酸	1.668	1.923
グリシン	33.22	30.869
アラニン	22.78	25.512
システイン	0.376	0.562
バリン	13.374	12.652
イソロイシン	2.568	2.249
ロイシン	6.235	6.001
チロシン	0.703	0.976
フェニルアラニン	2.967	3.023
リシン	0.279	0.381
ヒスチジン	0.037	0.063
アルギニン	0.516	0.68
ヒドロキシプロリン	1.168	1.007
プロリン	11.699	11.612
合計	100.00	100.00

実験例 2（架橋剤としてグルタルアルデヒドを使用しエラスチン架橋体を作製）

脱イオン水 161μl に、実験例 1 で得た水溶性エラスチン 90mg を加え溶解させ、水溶性エラスチン水溶液を得た。該水溶液に 250mM グルタルアルデヒド水溶液（東京化成社製）48.7μl を加え、直後にゲル状のエラスチン架橋体を得た。該ゲル状のエラスチン架橋体は成形用の直径 2mm、長さ 2cm 円柱状のテンプレートに流し込もうとしたが、流動性が小さく流し込むことはできなかった。250mM グルタルアルデヒド水溶液の添加量を前述の 1/10 の量に下げても、テンプレートに流し込むことが困難であっ

た。

実験例3（架橋剤としてエチレングリコールジグリシジルエーテルを使用しエラスチン架橋体を作製）

脱イオン水41.6 μ lに、実験例1で得た水溶性エラスチン36mgを加え溶解させ、水溶性エラスチン水溶液を得た。該水溶液に287mMエチレングリコールジグリシジルエーテル水溶液42.4 μ lを加えよくかき混ぜ、その溶液を直径2mm、長さ2cm円柱状のテンプレートに流し込み、50℃、1時間加熱してゲル状のエラスチン架橋体を得た。得られたゲル状のエラスチン架橋体を脱イオン水で充分洗浄し両端を指で引っ張り簡易伸張試験を行った結果、伸長の変形に対して壊れやすかった。

実験例4（架橋剤として水溶性カルボジイミドを使用しエラスチン架橋体を作製）

脱イオン水10.4 μ lに、実験例1で得た水溶性エラスチン50mgを加え溶解させ、水溶性エラスチン水溶液を得た。該水溶液に274mM水溶性カルボジイミド（WSCD、ペプチド研究所社製）水溶液10.4 μ lを加え、更に645mMアジピン酸水溶液24.4 μ lを加えよくかき混ぜ、30%エラスチン水溶液を作成した。結果、長鎖ジカルボン酸は脱イオン水には溶解せず（アルカリ性の場合には溶解するが、その場合はカルボジイミドとの反応性が速く、やはり溶解不完全のまま一部固化し、各種テンプレート（型：ガラス管、膜作成用型など）に流し込むのは不可能であった。

実験例5（架橋剤として光反応性スクシンイミドエステルを使用しエラスチン架橋体を作製）

脱イオン水1mlに、実験例1で得た水溶性エラスチン13mgおよび光反応性スクシンイミドエステル（NHS-ASA、N-ヒドロキシスクシンイミジル-4-アジドアルチル酸（N-hydroxysuccinimidy-4-Azidosalicylic Acid）、ピアス社製（PIERCE））4mgを加え溶解させ、室温で1日反応させた。反応終了後、未反応物を除去し精製し、光反応性エラスチン7mgを得た。これに脱イオン水20 μ lを加えて光反応性エラスチン水溶液とし、365nmの紫外線（UV）照射を90分間行いゲル状化させた。ゲル化後は脱イオン水で充分洗浄した。結果、架橋剤は水不溶性であるため反応性は低く、有機溶媒中ではエラスチンが不溶化するためやはり反応性が悪かった。光照射に関しても、エラスチン水溶液の濃度が薄い（数%）場合はUV光が透過するが、10%以上の濃度では、光の照射面のみの反応で集結するためゲル化率が悪く、テンプレート内での反応はほぼ不可能であった。

実験例6（架橋剤としてアジピン酸スクシンイミドエステルを使用しエラスチン架橋体を作製）

脱イオン水119 μ lに、実験例1で得た水溶性エラスチン60mgを加え溶解させた後、385mMアジピン酸スクシンイミドエステル水溶液を21 μ l加え、該水溶液を直径2mm、長さ2cm円柱状のテンプレートに流し込み、80℃で1時間加熱しゲル化させた。結果、架橋剤が一部不溶化しているためか、生成したゲルは弱い（テンプレートの形はなしていない）。ドデカンジカルボン酸スクシンイミドエステルは水に不溶のため反応しなかった。

実験例7（水溶性架橋剤[A]の作製）

ジカルボン酸のカルボキシル基を4-hydroxyphenyldimethyl-sulfoniummethylsulfate（4-ヒドロキシフェニルジメチルスルホニウムメチルサルフェイト：以下DSP）により活性エステル化させた。DSPによる活性エステル化には、ペプチド化学等で報告されている方法（K. Kouge, T. Kozumi, H. Okai, and T. Kato. (1987) Bull. Chem. Soc. Jpn., 60, 2409.（日本化学会報誌））を用いて、以下の実験を行った。

ドデカンジカルボン酸（2.5mmol）とDSP（5mmol）をアセトニトリル（35ml）に60℃で溶解し、放冷後dicyclohexylcarbodiimide（ジシクロヘキシルカルボジイミド：以下DCC）（5mmol）を加え25℃で5時間攪拌した。その後反応中に生じたジシクロヘキシル尿素（以下DC-Urea）をガラス

フィルターでろ過し除去した。更に、反応溶液（ろ液）をエーテル（70 ml）に滴下して固化させた。該固形物を減圧乾燥して、本発明の水溶性架橋剤〔A〕1.4 gを得た。得られた架橋剤の純度は¹H-NMR（JNM-EX-500, JEOL）による測定で98%であった。

実験例8（架橋剤として実験例7で得た水溶性架橋剤〔A〕を使用しエラスチン成形体を作製）

脱イオン水1 mlに、実験例1で得た水溶性エラスチン200 mgを加えてよく攪拌し、20%水溶性エラスチン水溶液を得た。該水溶液の温度を25℃とし、これに実験例7で得た水溶性架橋剤〔A〕72 μmol（該水溶液中のエラスチンのアミノ基量（24 μmol）の3倍量）を加え5分間攪拌した。次にトリエチルアミンを24 μmol加え更に5分間攪拌した後、直径2 mm、長さ2 cm円柱状のテンプレートに流し込み2日間静置しゲル化させ、脱イオン水で充分洗浄し乳白色で弾性に富む棒状のエラスチン成形体を得た。また、得られたエラスチン成形体を110℃で10分間オートクレーブ処理を行い、形状に変化が見られない滅菌されたエラスチン成形体を得た。得られたエラスチン成形体のヤング率を引っ張り強度試験機を用いて測定した結果を表2に示す。但し測定は得られたエラスチン成形体をそのまま使用し水中にて行った。また、得られたエラスチン成形体の切断面を90倍の倍率で走査型顕微鏡撮影した物を図1に示す。電子顕微鏡写真から、エラスチン架橋体の内部構造は、空隙を有するスポンジ構造であり、その平均直径は62 μmであった。空隙の異なるエラスチン架橋体の弾性率を表2に示した。

【表2】

ゲル作成温度	弾性率（25℃）	弾性率（50℃）
20℃	1.2-3.5 10 ³ Pa	1.0-4.0 10 ³ Pa
50℃	1.5-7.8 10 ³ Pa	0.7-5.0 10 ³ Pa

実験例9（架橋剤として実験例7で得た水溶性架橋剤〔A〕を使用し架橋条件を変えエラスチン成形体を作製）

該水溶液の温度を50℃とし静置時間を6時間とした以外は、実験例8の製造に準じて架橋反応並びに成形を行い、乳白色で弾性に富む棒状のエラスチン成形体を得た。得られたエラスチン成形体のヤング率を引っ張り強度試験機を用いて測定した結果を表2に示す。但し測定は得られたエラスチン成形体をそのまま使用し水中にて行った。また、得られたエラスチン成形体の切断面を90倍の倍率で走査型顕微鏡撮影した物を図2に示す。電子顕微鏡写真から、エラスチン架橋体の内部構造は、空隙を有するスポンジ構造であり、その平均直径は9 μmであった。

実験例10（エラスチン含有量を全体の1%としたエラスチン架橋体およびその成形体を作製）

実験例1で得た水溶性エラスチン0.8 mgおよびゼラチン72 mgに脱イオン水148 μlを加えて溶解させた後、実験例7で作製した水溶性架橋剤278 mM、39 μl（架橋剤はエラスチンのアミノ基量の2倍に相当）加え、30%水溶性エラスチン水溶液を作製した。該水溶液を成形型に流し込み、120℃、30分間オートクレーブで加熱しエラスチン架橋体およびその成形体（図3）を得た。

実験例11（エラスチン含有量を全体の10%としたエラスチン架橋体およびその成形体を作製）

実験例1で得た水溶性エラスチン8 mgおよびゼラチン72 mgに脱イオン水148 μlを加えて溶解させた後、実験例7で作製した水溶性架橋剤278 mM、39 μl（架橋剤はエラスチンのアミノ基量の2倍に相当）加え、30%水溶性エラスチン水溶液を作製した。該水溶液を成形型に流し込み、120℃、30分間オートクレーブで加熱しエラスチン架橋体およびその成形体（図4）を得た。

実験例12（エラスチン含有量を全体の90%としたエラスチン架橋体およびその成形体を作製）

実験例1で得た水溶性エラスチン72 mgおよびゼラチン8 mgに脱イオン水148 μl

を加えて溶解させた後、実験例7で作製した水溶性架橋剤278 mM、39 μ l（架橋剤はエラスチンのアミノ基量の2倍に相当）に加え、30%水溶性エラスチン水溶液を作製した。該水溶液を成形型に流し込み、120℃、30分間オートクレーブで加熱しエラスチン架橋体およびその成形体（図5）を得た。

実験例13（エラスチン含有量を全体の0%としたゼラチン架橋体およびその成形体を作製）

ゼラチン80 mgに脱イオン水148 μ lを加えて溶解させた後、実験例7で作製した水溶性架橋剤278 mM、39 μ l（架橋剤はエラスチンのアミノ基量の2倍に相当）に加え、30%水溶性エラスチン水溶液を作製した。該水溶液を成形型に流し込み、120℃、30分間オートクレーブで加熱しエラスチン架橋体およびその成形体およびその成形体（図6）を得た。 10

実験例10～13の結果をまとめると、エラスチン含有が0%の場合は膨潤が大きい（水中で、6時間後、テンプレートの直径の2.3倍程度にまで膨潤した）、1%含有のゲルからは形状がしっかりしたゲルが形成された（図7：エラスチン含有0, 1, 10, 90%）。他のゲルの膨潤性は1%ゲルでテンプレートの1.5倍程度、10%ゲルでテンプレートの1.4倍程度、90%ゲルでテンプレートの1.1倍程度であった。

エラスチンの含有率が高くなるにつれ、その形状安定性は高い。伸長させた場合は、弾性率は不明だが含有率の低いゲルの方がちぎれやすく、強度が低い。

ゲルの色は水溶性エラスチン溶液が黄色なため含有率が高くなるにつれ、その影響が出て黄色味を帯びた。 20

実験例14（架橋原料がさらに糖質を含有したエラスチン架橋体およびそのエラスチン成形体を作製）

実験例1で得た水溶性エラスチン75 mgおよびヘパリン5 mgに脱イオン水148 μ lを加えて溶解させた後、実験例7で作製した水溶性架橋剤278 mM、39 μ l（架橋剤はエラスチンのアミノ基量の2倍に相当）に加え、30%水溶性エラスチン水溶液を作製した。該水溶液を成形型に流し込み、120℃、30分間オートクレーブで加熱しエラスチン架橋体およびその成形体（図8）を得た。

実験例15（ヘパリン含有の確認）

作成したゲルを脱イオン水で充分洗浄した後、1%トルイジンブルー"0"水溶液中で染色した。トルイジンブルー"0"はヘパリンに結合すると青→紫に染色される。図9よりヘパリンがゲルに取り込まれていることが確認できた。 30

実験例16（エラスチン膜の作製）

リペルシラン処理（シリコンコート）したスライドガラスを2枚用い、スペーサーとしてシリコンゴムシートを用いた成形用の型を用意し、実験例1で得た30%水溶性エラスチン水溶液と実験例7で作製した水溶性架橋剤（エラスチンのアミノ基に対して3倍モル）を混合した溶液を流し込み、外部より空気・水が入らないようにした。この状態を保ちながら水中で80℃、30分間加熱処理し、エラスチン膜（図10）を得た。

実験例17（エラスチン各種成形体の調製）

各種成形用の型を用意し、30%水溶性エラスチン水溶液と実験例7で作製した水溶性架橋剤（エラスチンのアミノ基に対して3倍モル）を混合した溶液を流し込み、外部より空気・水が入らないようにした。この状態を保ちながら水中で80℃、30分間加熱処理し、チューブ状（図11）、糸状（図12）、ペレット状（図13）の成形物を得た。 40

実験例18（細胞培養方法と増殖速度）

組織培養用プラスチックシャーレ（6穴）にエラスチン膜（厚さ0.5 mm, 1 cm×1 cm）をおき、培養液を2 mlに加え37℃で30分間静置した。培養液はMEMハンクス粉末2.57 gに脱イオン水215 mlを加え溶解した後、重曹溶液（7.5%）を1.17 ml、グルタミン溶液（200 mM）を2.5 ml、非必須アミノ酸溶液を2.5 ml添加、ゲンタマイシン5 mlそして牛胎児血清を25 ml添加して作製した。

これに神経細胞芽腫細胞（ニューロblastoma、IHR-32（ATCC No. CCL-127）を 1.0×10^4 cells/ml濃度で100 μ l播種して24時間37℃ 50

でインキュベーションした後、経時的に細胞数を細胞計測板あるいは直接観察にて計測した。

対象として、アルブミンコートを用いた場合の、細胞増殖性を評価した。また培地は毎日交換した。実験回数は3回行った。

(結果) エラスチン(シート)の細胞播種から3日後の細胞増殖率は約4倍程度。アルブミンコートの場合は細胞播種から3日後の細胞増殖率は約1.5倍程度であった。増殖曲線を図14に示した。

実験例19(繊維芽細胞増殖因子(FGF)とヘパリンを含有したエラスチンゲル)

水溶性エラスチン75mgおよびヘパリン5mgに脱イオン水1481 μ lを加え溶解させた後、実験例7で作製した水溶性架橋剤(278mM)39 μ lを加え、30%エラスチン水溶液を作成する。溶液を成形型に流し込み、120℃(オートクレーブ)で30分加熱して反応させた。作成したゲルを0.1Mリン酸緩衝液(pH7.5)で洗浄した後、2 μ g/ml塩基性繊維芽細胞増殖因子(bFGF)を含む0.1Mリン酸緩衝液(pH7.5)に24時間浸し、ゲルに含有したヘパリンに吸着させた。得られた成形物を図15に示した。

産業上の利用可能性

本発明のエラスチン架橋体は、細胞接着性タンパク質の脱理が起こらず、生体移植に適合し得る弾性を有した材料であるため、従来の材料に生じていた長期の治療の間に該細胞接着性タンパク質が脱離する問題や、神経や血管などの組織の再生が不十分である問題などを解決する効果を有する。

また、本発明の水溶性架橋剤は、水溶性エラスチンを架橋し、鋳型があればどんな成形も可能な弾性を有するエラスチン架橋体を得られるため、その成形体を糸状や膜状、棒状、ペレット状、チューブ状、更には再生医療用材料や医療用器具材料などに加工し、幅広い用途での利用を可能とする効果を有する。

更に、本発明のエラスチン架橋体は、空隙を有するスポンジ構造を形成することから、薬剤などの浸透や、他の材料との複合を容易に行うことができ、新しい医療用材料の提供を可能とする効果を有する。

【図面の簡単な説明】

図1は、実施例8の本発明のエラスチン架橋体の電子顕微鏡写真図である(25℃で反応)。

図2は、実施例9の本発明のエラスチン架橋体の電子顕微鏡写真図である(50℃で反応)。

図3は、実施例10のエラスチン1%ゼラチン架橋成形体を示す図である。

図4は、実施例11のエラスチン10%ゼラチン架橋成形体を示す図である。

図5は、実施例12のエラスチン90%ゼラチン架橋成形体を示す図である。

図6は、実施例13のエラスチン0%/ゼラチン架橋成形体を示す図である。

図7は、エラスチン0~90%/ゼラチン架橋成形体比較写真図である。

図8は、実施例14のヘパリン含有エラスチン架橋成形体を示す図である。

図9は、実施例15のヘパリン含有確認試験を示す図である。

図10は、実施例16のシート状エラスチン架橋体を示す図である。

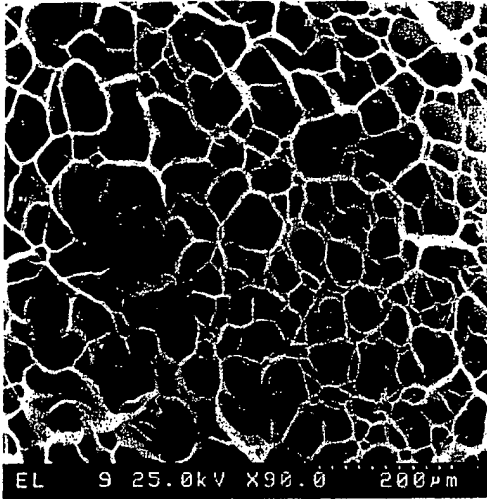
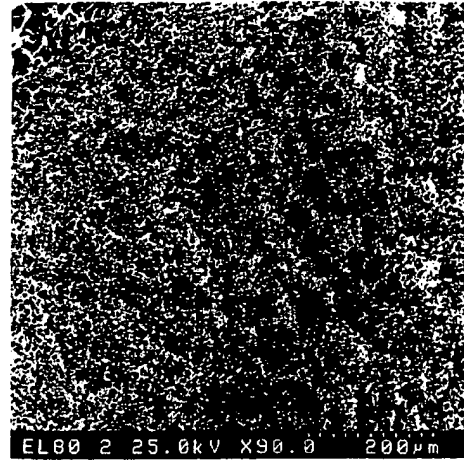
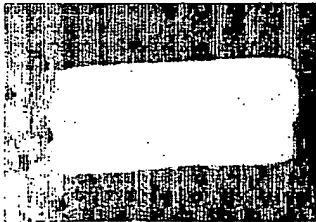
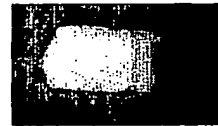
図11は、実施例17のシート状エラスチン架橋体を示す図である。

図12は、実施例17の糸状エラスチン架橋体を示す図である。

図13は、実施例17のペレット状エラスチン架橋体を示す図である。

図14は、細胞接着性タンパク質上での神経細胞芽腫細胞(IMR-32)の増殖カーブを示す図である。記号はゼラチン(Δ)、エラスチン(\bullet)、アルブミン(\square)、Noはタンパク質をコートした培養プレート上の初期細胞数、Ntは測定時の細胞数を意味する。

図15は、実施例19の繊維芽細胞増殖因子含有エラスチン/ヘパリン架橋体を示す図である。

【図1】
図1【図2】
図2【図3】
図3【図4】
図4

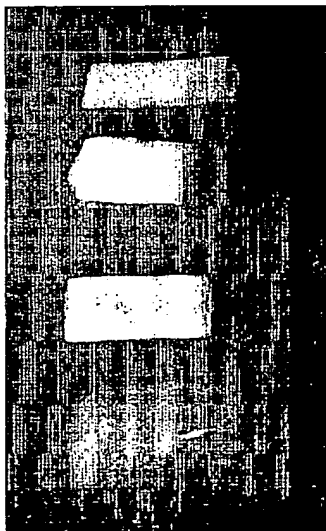
【図 5】
図 5



【図 6】
図 6

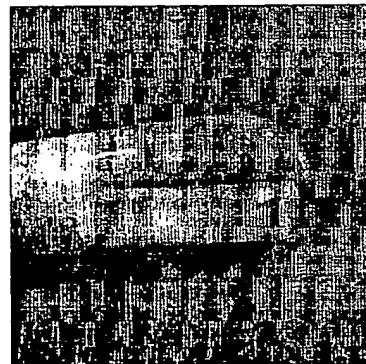


【図 7】
図 7

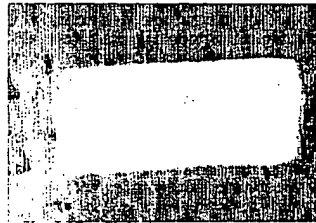
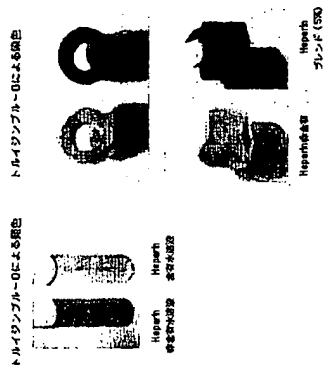


Elastin:Gelatin = 0:100
Elastin:Gelatin = 1:99
Elastin:Gelatin = 10:90
Elastin:Gelatin = 90:10

【図 8】
図 8



【 図 9 】
図 9



$$\begin{bmatrix} \otimes & 1 & 0 \\ & \otimes & 1 & 0 \end{bmatrix}$$


【 1 1 】
 1 1





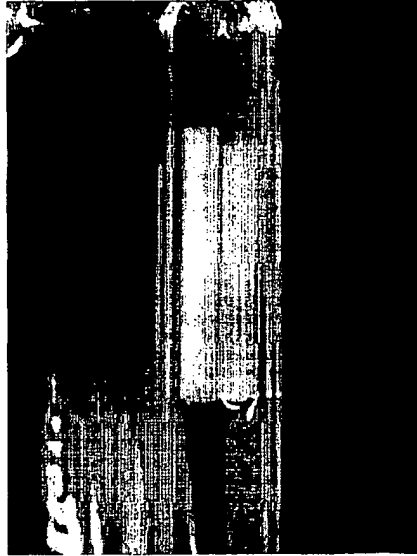
【☒ 1.2】
☒ 1.2





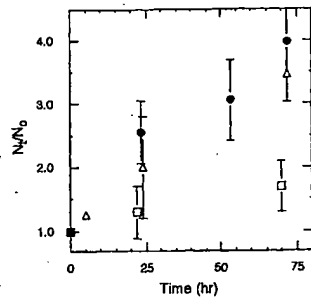
【 1 3】
 1 3



【 1 4】
 1 4



【 1 5】
 1 5



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/05275

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁷ C08H1/06, C08L89/06, A61L27/22		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl ⁷ C08H1/00-1/06, C08L89/00-89/06, A61L27/22		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 8-33661 A (Sumitomo Bakelite Co., Ltd.), 06 February, 1996 (06.02.96), Claims; examples (Family: none)	1-10, 13-15, 18
X	JP 9-173361 A (Sumitomo Bakelite Co., Ltd.), 08 July, 1997 (08.07.97), Claims; Par. No. [0011]; examples (Family: none)	1-10, 13-15, 18
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 02 September, 2002 (02.09.02)		Date of mailing of the international search report 17 September, 2002 (17.09.02)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/05275

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 89/00413 A1 (STONE, Kevin, R.) 26 January, 1989 (26.01.89), Claims and examples & WO 90/09769 A1 & WO 91/16867 A & WO 93/11723 A1 & EP 527936 A & WO 93/21857 A1 & EP 461201 A & WO 95/32623 A1 & EP 760598 A & EP 324852 A & EP 617598 A & EP 639959 A & US 4880429 A1 & US 5007934 A1 & US 5108438 A1 & US 5116374 A1 & US 5158574 A1 & US 5258043 A1 & US 5263984 A1 & US 5306311 A1 & US 5624463 A1 & US 5681353 A1 & US 5735902 A1 & US 5735903 A1 & US 6042610 A1 & JP 2-500654 A & JP 4-504968 A & JP 5-508333 A & JP 6-507659 A & JP 7-505326 A & JP 3100156 B & JP 10-501155 A & AU 7959191 A & DE 69126974 D & AU 5337990 A & DE 69021204 C & AU 2424588 A & DE 3879921 D & AU 3229193 A & AU 2555395 A & AU 4048493 A & CA 2050471 A & CA 2082427 A & AT 87452 T & DE 3879921 A & AU 637605 B & CA 2125967 A & DE 3879921 T & CA 2134111 A & AT 125441 T & ES 2077676 T & AU 669686 B & AT 155668 T & AU 684183 B	1-10,13-15 18
A	JP 9-273080 A (Showa Denko Kabushiki Kaisha), 21 October, 1997 (21.10.97), Claims (Family: none)	1-15,18-22
A	WO 96/34618 A (Protein Polymer Technologies, Inc.), 07 November, 1996 (07.11.96), Claims & EP 823848 A & US 5817303 A1 & US 6033654 A1 & AU 823848 A & CA 2219020 A & AU 692391 B & NZ 307794 A & BR 9608132 A & JP 11-502537 A	1-15,18-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/05275

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1.
- ☒
- Claims Nos.: 16-17

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 16 and 17 relate to surgical therapy or regeneration therapy and thus pertain to methods for treatment of the human body by surgery or therapy as well as diagnostic methods. Thus, these claims relate to a subject matter which this International Searching Authority (continued to extra sheet)

- 2.
- ☐
- Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

- 3.
- ☐
- Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Claims 1 to 18 and 21 and 22 relate to crosslinked elastin.
Claims 19 and 20 relate to crosslinking agents.

- 1.
- ☒
- As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

- 2.
- ☐
- As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

- 3.
- ☐
- As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

- 4.
- ☐
- No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/05275

Continuation of Box No.I-1 of continuation of first sheet(1)

is not required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JPO2/05275
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁷ C08H1/06, C08L89/06, A61L27/22		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁷ C08H1/00-1/06, C08L89/00-89/06, A61L27/22		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 8-33661 A (住友ベークライト株式会社) 1996.02.06, 特許請求の範囲及び実施例 (ファミリーなし)	1-10, 13-15, 18
X	JP 9-173361 A (住友ベークライト株式会社) 1997.07.08, 特許請求の範囲、段落【0011】及び実 施例 (ファミリーなし)	1-10, 13-15, 18
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願 の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	02.09.02	国際調査報告の発送日 17.09.02
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 小野 寺 務	4J 8118 電話番号 03-3581-1101 内線 3455

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP02/05275
C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 89/00413 A1 (STONE, Kevin, R.) 1989. 01. 26, Claims and Examples &WO 90/09769 A1 &WO 91/16867 A &WO 93/11723 A1 &EP 527936 A &WO 93/21857 A1 &EP 461201 A &WO 95/32623 A1 &EP 760598 A &EP 324852 A &EP 617598 A &EP 639959 A &US 4880429 A1 &US 5007934 A1 &US 5108438 A1 &US 5116374 A1 &US 5158574 A1 &US 5258043 A1 &US 5263984 A1 &US 5306311 A1 &US 5624463 A1 &US 5681353 A1 &US 5735902 A1 &US 5735903 A1 &US 6042610 A1 &JP 2-500654 A &JP 4-504968 A &JP 5-508333 A &JP 6-507659 A &JP 7-505326 A &JP 3100156 B &JP 10-501155 A &AU 7959191 A &DE 69126971 D &AU 5337990 A &DE 69021204 C &AU 2424588 A &DE 3879921 D &AU 3229193 A &AU 2555395 A &AU 4048493 A &CA 2050471 A &CA 2082427 A &AT 87452 T &DE 3879921 A &AU 637605 B &CA 2125967 A &DE 3879921 T &CA 2134111 A &AT 125441 T &ES 2077676 T &AU 669686 B &AT 155668 T &AU 684183 B	1-10, 13-15, 18
A	JP 9-273080 A (昭和電工株式会社) 1997. 10. 21, 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-15, 18-22
A	WO 96/34618 A (PROTEIN POLYMER TECHNOLOGIES, INC.) 1996. 11. 07, Claims &EP 823848 A &US 5817303 A1 &US 6033654 A1 &AU 823848 A &CA 2219020 A &AU 692391 B &NZ 307794 A &BR 9608132 A &JP 11-502537 A	1-15, 18-22

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO2/05275

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 16-17 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲16及び17は、外科治療方法ないし再生医療であり、人の身体の手術又は治療による処置及び診断方法に該当し、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が調査することを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

請求の範囲1-18及び21-22は、エラスチン架橋体に関するものである。
請求の範囲19-20は、架橋剤に関するものである。

1. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☒ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

F I

C 0 8 K 5/00

C 0 8 L 89/00

C 0 8 L 89/00

C 0 8 L 101/00

C 0 8 L 101/00

A 6 1 L 15/04

(注) この公表は、国際事務局 (W I P O) により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願 (日本語実用新案登録出願) の国際公開の効果は、特許法第 1 8 4 条の 1 0 第 1 項 (実用新案法第 4 8 条の 1 3 第 2 項) により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。